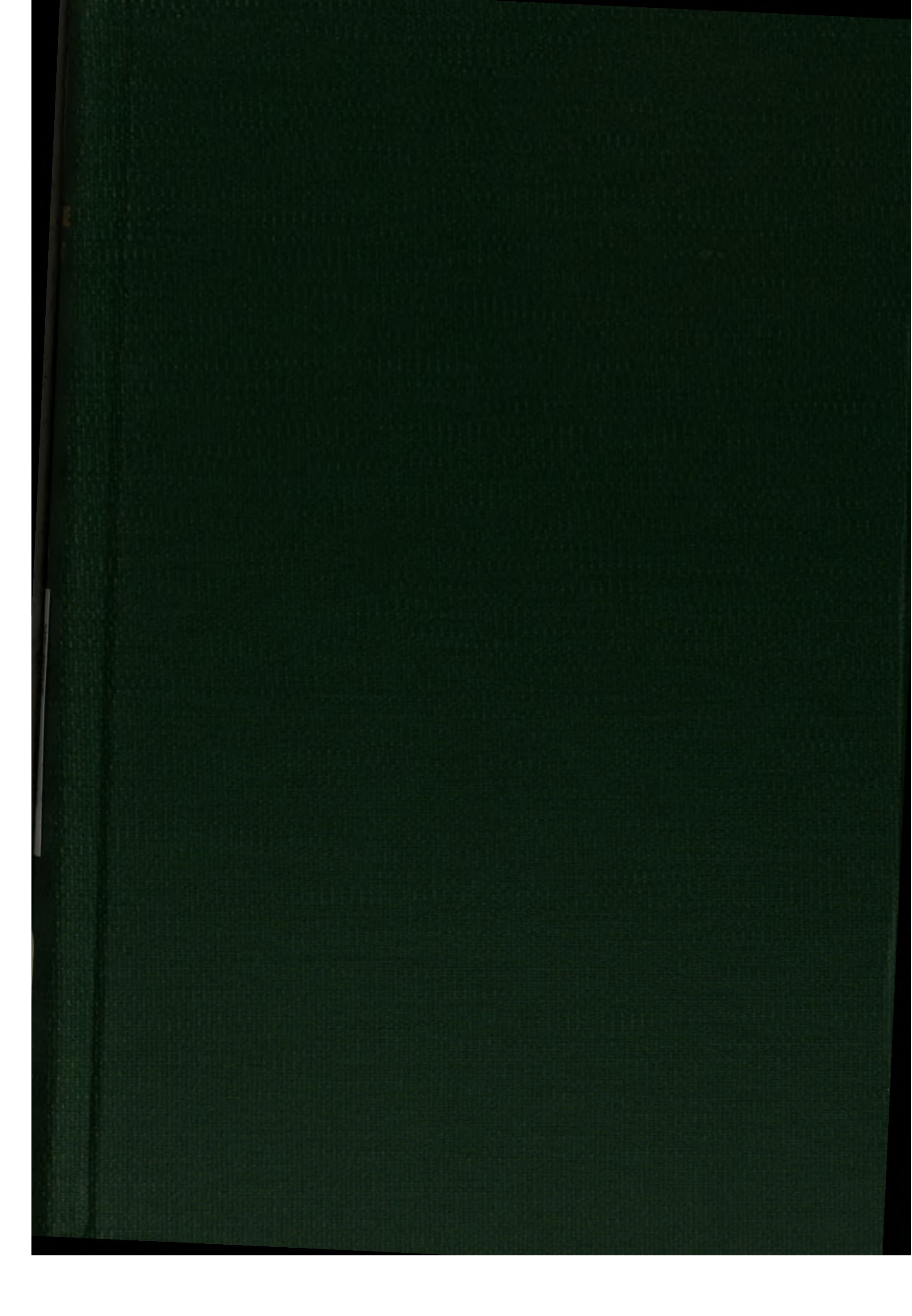
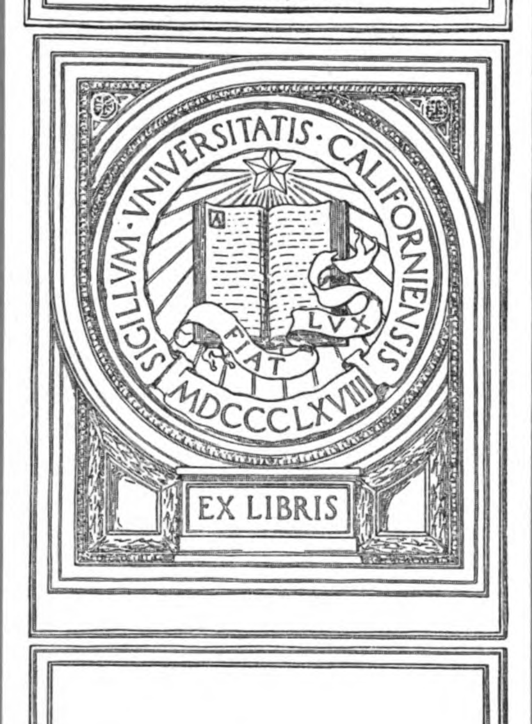
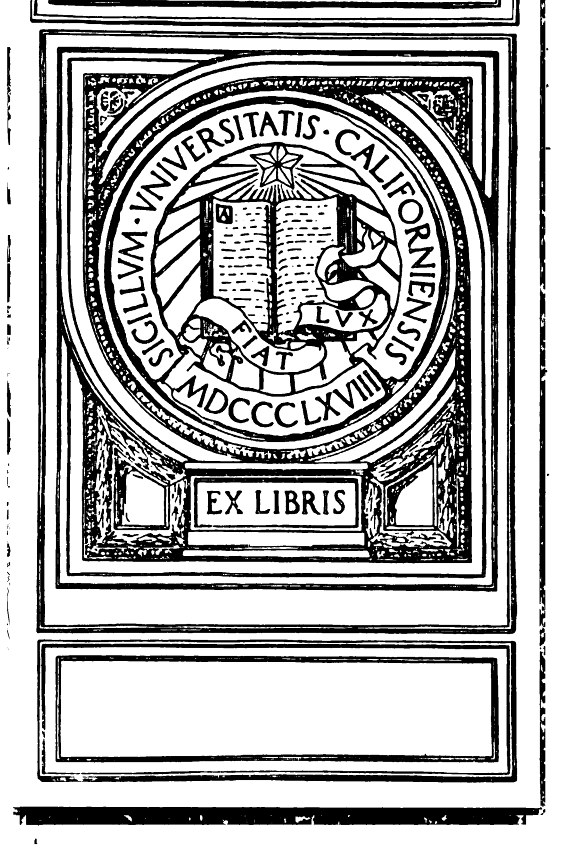



SIGILLVM·VNIVERSITATIS·CALIFORNIENSIS
FIAT LVX
MDCCCLXVIII
EX LIBRIS




UNIVERSITY OF CALIFORNIA
MEDICAL CENTER LIBRARY
SAN FRANCISCO
SIGILLVM · VNIVERSITATIS · CALIFORNIENSIS
FIAT LVX
MDCCCLXVIII
EX LIBRIS

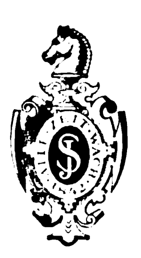
Bioc

Biochemische Zeitschrift

herausgegeben von

C. Neuberg-Berlin

Hundertsechsundfünfzigster Band

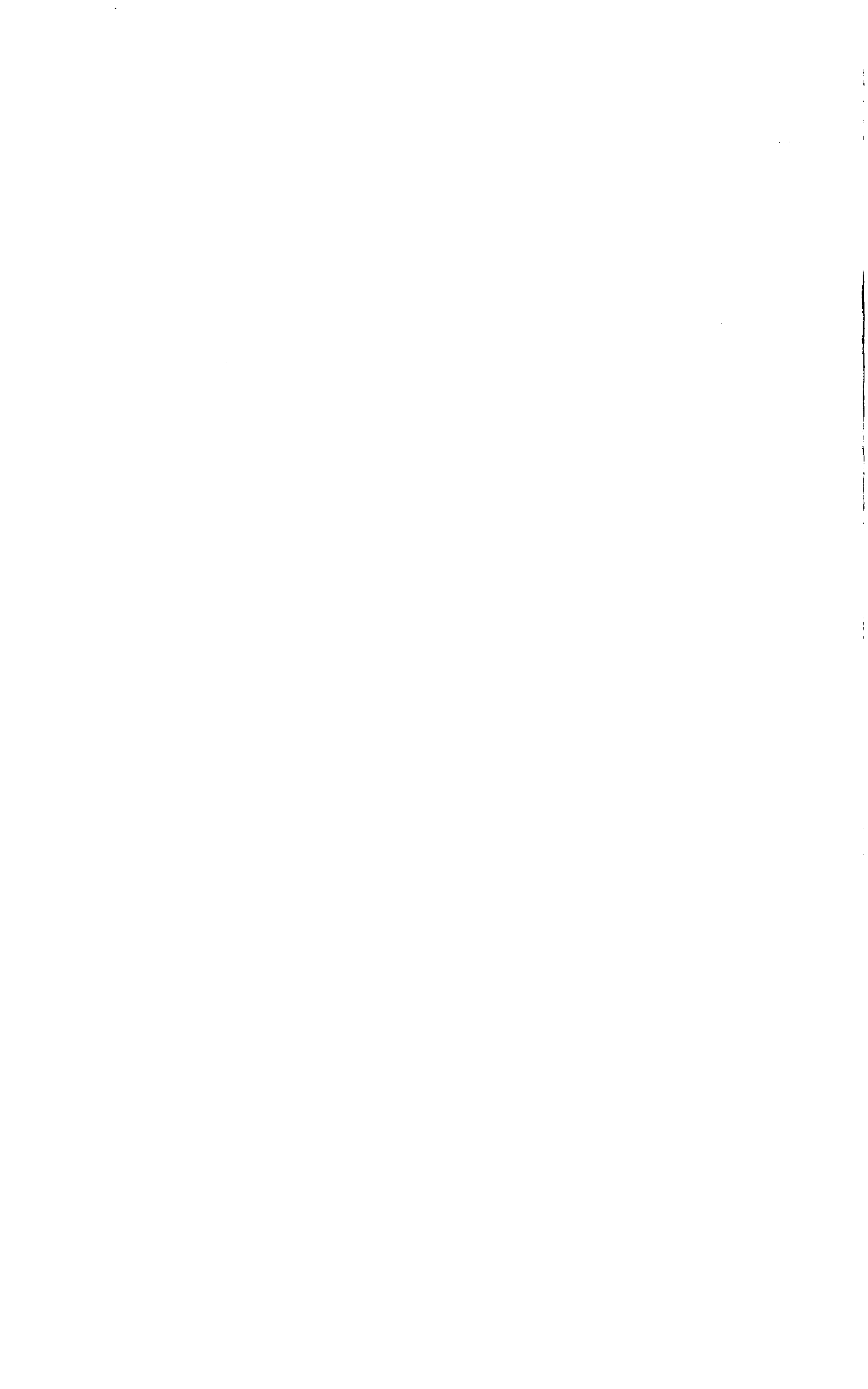


Berlin
Verlag von Julius Springer
1925

Druck von Friedr. Vieweg & Sohn Akt.-Ges., Braunschweig.

Inhalt.

Festschrift für Max Cremer



Biochemische Zeitschrift

Unter Mitwirkung von

herausgegeben von

C. Neuberg-Berlin

156

Hundertsechsundfünfzigster Band

Erstes bis viertes Heft

Festschrift für Max Cremer

Ausgegeben am 11. März 1925



Berlin
Verlag von Julius Springer
1925

Die

Biochemische Zeitschrift

erscheint zwanglos in Heften, die in kurzer Folge zur Ausgabe gelangen; je sechs Hefte bilden einen Band.

In der Regel können Originalarbeiten nur Aufnahme finden, wenn sie nicht mehr als $1^1/_2$ Druckbogen umfassen. Sie werden mit dem Datum des Eingangs versehen und der Reihe nach veröffentlicht, sofern die Verfasser die Korrekturen rechtzeitig erledigen. — Mitteilungen polemischen Inhalts werden nur dann zugelassen, wenn sie eine tatsächliche Richtigstellung enthalten und höchstens zwei Druckseiten einnehmen.

Manuskriptsendungen sind an den Herausgeber,
Herrn Prof. Dr. C. Neuberg, Berlin-Dahlem, Hittorfstr. 18,
zu richten.

Die Verfasser erhalten bis 100 Sonderabdrucke ihrer Abhandlungen kostenfrei bis zu einem Umfang von $1^1/_2$ Druckbogen, von größeren Arbeiten nur bis 75. Doch bittet der Verlag, nur die zur tatsächlichen Verwendung benötigten Exemplare zu bestellen. Über die Freiexemplare hinaus bestellte Sonderdrucke werden berechnet. Die Herren Mitarbeiter werden jedoch in ihrem eigenen Interesse dringend gebeten, sich, wenn irgend möglich, mit der kostenfrei zur Verfügung gestellten Anzahl zu begnügen, und falls mehr Exemplare unbedingt erforderlich sind, deren Kosten vorher vom Verlage zu erfragen, um unliebsame Überraschungen zu vermeiden.

Verlagsbuchhandlung Julius Springer
Berlin W 9, Linkstraße 23/24.

156. Band. **Inhaltsverzeichnis.** **Heft 1/4.**

Festschrift für Max Cremer

Fortsetzung des Inhaltsverzeichnisses siehe 3. Umschlagseite.

Herrn

Professor Dr. Max Cremer

zu seinem 60. Geburtstage

gewidmet.



Über Kohlehydrat- und Eiweißverdauung bei Tauben und Hühnern, und über das Eindringen von Verdauungsfermenten durch die pflanzliche Zellmembran.

Von

Ernst Mangold.

(Aus dem tierphysiologischen Institut der Landwirtschaftlichen Hochschule Berlin.)

(Eingegangen am 25. Januar 1925.)

Trotz der Bedeutung der Hühner und Tauben als Nutzgeflügel und trotz ihrer leichten Zugänglichkeit als Versuchstiere sind die Einzelheiten im Chemismus der Verdauung bei den körnerfressenden Vögeln noch kaum untersucht, obwohl hier schon *Spallanzani*[1]) und *Tiedemann* und *Gmelin*[2]) der Forschung die Wege zeigten. Neben wenigen Ausnutzungsversuchen finden sich nur kurze, oft nur beiläufig Untersuchungen über die Verdauung bei Säugern begleitende, Angaben über Art und Grad der Veränderungen, die die verschiedene Nahrung in den einzelnen Abschnitten des Verdauungstraktus der Vögel erfährt. So seien hier zwei Versuchsreihen mitgeteilt, deren erste von mir noch im physiologischen Institut zu Jena, und deren zweite kürzlich unter meiner Leitung durch Herrn Diplomlandwirt *Kurt Krüger* im hiesigen Institut ausgeführt wurde. In beiden wurde die mikroskopische und mikrochemische Methodik angewandt, die in der vergleichenden Physiologie der Verdauung besonders *Biedermann* zu so bedeutungsvollen Ergebnissen geführt hat. Die erste bezieht sich auf den

I. Verlauf der Stärkeverdauung nach Versuchen an Tauben

und beantwortet die Frage, wieweit die einzelnen Abschnitte, Kropf, Drüsenmagen, Muskelmagen, Darm, an der diastatischen Verdauung beteiligt sind. Die Tiere erhielten, zum Teil nach einem Hungertage,

---

[1]) *Spallanzani*, Versuche über das Verdauungsgeschäft des Menschen und verschiedener Tierarten. Übersetzt von *Michaelis*. Leipzig 1785.

[2]) *Tiedemann* und *Gmelin*, Die Verdauung. Heidelberg und Leipzig. 1831.

als letztes Futter einen mit Wasser angerührten Brei von Weizenstärke, in einigen Fällen zugleich mit Weizenkörnern, und wurden meist 2 Stunden danach getötet. Unmittelbar anschließend wurde der Inhalt der einzelnen Abteilungen des Verdauungstraktus mikroskopisch untersucht, wobei aus dem Darm, dessen Länge bei acht Tieren im Durchschnitt 95 cm (84 bis 117 cm) betrug, im Abstande von je 10 cm, dicht unterhalb des Pylorus in noch kürzeren Abständen, eine Probe entnommen und, wo es zweckmäßig erschien, dem mikroskopischen Präparat Jodlösung zugesetzt wurde.

1. Kropf.

Der Kropf ist zweifellos in erster Linie ein Nahrungsreservoir für größere Mahlzeiten, das die Aufgabe hat, dem Muskelmagen, der selbst im leeren Zustande mit seinen rhythmischen Bewegungen[1]), wenn auch mit verringerter Frequenz, fortfährt, stets neues Material zur Zerkleinerung zuzuführen, soviel er bewältigen kann.

Dabei ist die einzige damit verbundene Tätigkeit des Kropfes die schon von *Spallanzani*[2]) festgestellte und von *Gurlt*[3]) wieder hervorgehobene Quellung und Erweichung des Körnerfutters durch die abgesonderte und aufgenommene Flüssigkeit. Hierin sieht auch *Biedermann*[4]) die Bedeutung des Kropfes. Daß dieser nicht unentbehrlich ist, fand schon *Neergard*[5]) nach Exstirpation des Organs. Fermentative Wirkungen spielen im Kropfe keine typische oder wesentliche Rolle; wenn sich peptische Enzyme in der Schleimhaut nachweisen lassen (*Tiedemann* und *Gmelin*), sind diese offenbar vom Drüsenmagen heraufgelangt [*Teichmann*[6]) bei Tauben]. *C. Schwarz* und *Teller*[7]), deren Prüfung auf peptische wie tryptische Verdauung für den Kropf der Hühner negativ ausfiel, fanden sowohl in der Kropfspülflüssigkeit wie bei Mazeration und Abschabung der Schleimhaut, wie auch im Speichel der Schnabeldrüsen eine geringe diastatische Wirkung, die die Autoren allein auf mit der Nahrung eingeführte Fermente beziehen, da sie nach Fleischfütterung ab-, nach Körner- und Brotfütterung wieder zunahm. Sie gelangen hiermit zur Bestätigung der wohl zuerst von *Ellenberger*[8]) hervorgehobenen Beteiligung der in den pflanzlichen Nahrungsmitteln selbst enthaltenen Fermente bei ihrer Verdauung im Tierkörper, wie sie neuerdings *Kortschagin*[9]) für das Chlorophyll, sowohl in vivo bei Einwirkung des Magensaftes wie in vitro, durch die eigene Chlorophyllase der Blattgewebe feststellen konnte.

---

[1]) *E. Mangold*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **111**, 163, 1906.
[2]) *Spallanzani*, l. c.
[3]) *Gurlt*, Anatomie der Hausvögel. Berlin 1849.
[4]) *W. Biedermann*, Wintersteins Handb. d. vergl. Physiol. **2**, 1, 1911.
[5]) *Jens Neergard*, Vergleichende Anatomie und Physiologie der Verdauungswerkzeuge der Säugetiere und Vögel. Berlin 1806.
[6]) *Teichmann*, Arch. f. mikr. Anat. **34**, 235.
[7]) *C. Schwarz* und *Teller*, Fermentforschung **7**, 254, 1923.
[8]) *Ellenberger*, Skandinav. Arch. f. Physiol. **18**, 306, 1906.
[9]) *Kortschagin*, diese Zeitschr. **153**, 510, 1924.

In meinen Versuchen konnte ich eine deutliche fermentative Arrosion von Stärkekörnern im Kropfe mikroskopisch nicht beobachten.

Die Reaktion des Stärkebreies erwies sich hierbei stets als sauer, wie es schon *Tiedemann* und *Gmelin* angegeben und auch *Schwarz* und *Teller* es für Kropfspülflüssigkeit und Kropfschleim in der Mehrzahl der Fälle bestätigten, wobei die Reaktion auf der fast regelmäßig vorhandenen Milchsäure beruhte, während freie Salzsäure fehlte. Es würde indessen wohl kaum überraschen, gelegentlich auch Salzsäure hier zu finden, die durch Rücktritt von Saft aus dem Drüsenmagen dorthin gelangte, wie es auch *Brücke*[1]) als Ursache der sauren Kropfreaktion bei getöteten Tauben annimmt, bei denen er im Leben die Reaktion nur alkalisch oder neutral fand. Während der *Drüsenmagen*, in dem sich ein spärlicher, dünnflüssiger, saurer Stärkebrei fand, ohne stärkere Ansammlungen rasch passiert wird, bietet der

2. *Muskelmagen*

langen Aufenthalt und reichliche Gelegenheit zur Einwirkung des vom Drüsenmagen her mitgeflossenen sauren Magensaftes sowie zur Zermalmung der Ingesta. Die Stärke erwies sich dadurch jedoch kaum verändert. Immerhin konnte hier meist schon eine beginnende Arrosion einiger Stärkekörner festgestellt werden, die teils auf der mechanischen Wirkung der Steinchen zu beruhen schien, zum größeren Teil offenbar fermentativer Natur war. Da diese geringe Arrosion mehrfach in dem vor dem Eingang zum Darm liegenden Mageninhalt, im Bereich des oberen Zwischenmuskels, deutlich weiter fortgeschritten war, nehme ich aber an, daß die geringe chemische Aufschließung der Stärke im Muskelmagen auf der diastatischen Wirkung von aus dem Dünndarm zurückgetretenem Pankreassafte beruht.

Diese Versuche zeigen übrigens, daß der Stärkebrei, obwohl er keiner mechanischen Zerkleinerung mehr bedarf, keineswegs die Höhlung des Muskelmagens umgeht, was bei der benachbarten Lage der Einmündung des Drüsenmagens und der Ausmündung in den Dünndarm als möglich in Betracht gezogen werden könnte; daß er vielmehr im Muskelmagen einen neuen Stapelort findet, von dem er je nach der Aufnahmefähigkeit des Dünndarms in diesen weitergegeben wird.

Im

3. *Darm*

zeigen die eingetretenen Stärkekörner schon unmittelbar unterhalb des Pylorus eine starke Einschmelzung; bereits 1 cm weiter erscheinen sie manchmal schon fast ausnahmslos arrodiert, 5 cm unterhalb des

---

[1]) *Brücke*, Sitzungsber. Math.-Nat. Kl. k. k. Akad. d. Wiss. Wien **37**, 131, 1859.

Magens sind meist nur noch einige oder kaum mehr ein intaktes Stärkekorn zu finden. Diese stürmisch einsetzende diastatische Wirkung schreitet nun fort, zugleich mit der Resorption, so daß bis zu 50 cm, also in der Mitte der ganzen Darmlänge, nur noch wenige Stärkereste angetroffen werden, wobei die Jodreaktion stets auch noch einige intakte Stärkekörner erkennen ließ. Bei 60 und 70 cm war der vorher dünnflüssige, in einigen Fällen schaumige Darminhalt stark eingedickt.

Die Färbung des Futterbreies, die sich im Drüsenmagen als gelbgrün, im Muskelmagen gelbgrün bis grasgrün erwies, war 1 cm unterhalb des Pylorus ausnahmslos goldgelb. Diese offenbar von Gallenbestandteilen herrührende Färbung wandelte sich meist bei 30 bis 40 cm, spätestens bei 50 cm Abstand vom Pylorus in Grüngelb bis Dunkelgrün; nur in einem Falle hielten sich gelbbraune Töne bis 80 cm.

In der Kloake findet eine letzte Ansammlung des Darminhalts statt, in dem nun, besonders mit der Jodreaktion, arrodierte Stärkekörner in allen Größen und auch schätzungsweise verhältnismäßig noch mehr intakte Stärkekörner nachweisbar sind, die auf dem ganzen Wege der diastatischen Wirkung entgingen. Auch kleine Steinchen aus dem Magen finden sich hier vor, ebenso Cellulosereste von Körnerhüllen, wie sie selbst bei Tauben, die schon 3 bis 6 Tage lang nur Stärkebrei bekamen, noch im ganzen Darm verstreut vorhanden waren, ein Beweis dafür, wie lange derartige unverdauliche Teile noch in größeren Mengen im Magen zurückgehalten werden können, um erst nach und nach aus diesem in den Darm abzugehen.

Das ganze Bild der Stärkeverdauung zeigt, daß sich die diastatische Wirkung bei Tauben so gut wie ausschließlich im Darm, hier aber mit solcher Intensität vollzieht, daß es selbst bei großen Mengen einseitiger Stärkefütterung zu einer verhältnismäßig hohen Ausnutzung kommt.

II. Die Ausverdauung pflanzlichen Zellinhalts bei Vögeln.

Eine Verdauung und Ausnutzung des Inhalts von uneröffneten Pflanzenzellen im Tierkörper erscheint nur möglich, wenn der Zellinhalt entweder durch teilweise oder totale, *fermentative oder bakterielle Auflösung der pflanzlichen Zellmembran*, oder durch *Eindringen der Verdauungsfermente* durch die unveränderte Zellmembran hindurch, der enzymatischen Einwirkung zugänglich wird. Sonst kommt wohl nur noch in Betracht, daß Fermente, die in den Zellen selbst enthalten sind, deren Inhalt angreifen (siehe vorigen Abschnitt) und die entstehenden Abbauprodukte durch die Zellmembran herausgelassen werden, oder daß Bakterien in die Zelle eindringen und die durch sie bewirkten Zersetzungsprodukte die schon mehr oder minder durchlässig gewordene Zellmembran passieren.

Eine fermentative Auflösung cellulosehaltiger Zellmembranen ist im Tierreich nur von *Biedermann* bei Schnecken[1][2]) und dem Flußkrebs[1]) sowie bei Heuschrecken[3]) nachgewiesen, die eine Cellulase (Cytase) bzw. Hemicellulase als Verdauungsferment produzieren.

Die bakterielle Auflösung der Rohfaser ist von den Wiederkäuern und anderen Säugern bekannt, sie ist die Grundlage der Ausnutzung der Cellulose, wie sie bei diesen Tieren einschließlich des Menschen[4]) je nach der Art des pflanzlichen Nahrungsmaterials in sehr verschieden hohem Grade erfolgt. Bei Vögeln kommt eine Ausnutzung der Cellulose nicht zur Geltung, jedenfalls höchstens in einem minimalen Grade. *Weiske*[5]) fand bei Gänsen Löwenzahnblätter völlig unverdaut, ebenso wie *v. Knieriem*[6]) bei Hühnern Rohfaser und Cellulose verschiedener Herkunft und wie *Weiser* und *Zaitschek*[7]) die Rohfaser von Hirse und Mais bei Gänsen, Enten, Hühnern und Puten. Nur *Paraschtschuk*[8]) gibt für Hühner eine Verdaulichkeit von 9,13 bis 43,52 Proz. für die Maisrohfaser an. *Kalugins*[8]) Befund einer 29,95proz. Verdaulichkeit der Weizenrohfaser läßt sich gegenüber den Untersuchungen von *Katayama*[9]) nicht aufrecht erhalten. Die Rohfaser der Gerste fand auch *Kalugin* und *Sokolowska*[10]) beim Huhne unverdaulich, wie *Völtz*[11]) diejenige des Hafers, und *Katayama* die von Gerste, Weizen, Weizenkleie, Reis, Kleeheu, Sojabohnen, auch Papiercellulose, bei normalen Hähnen im Ausnutzungsversuch völlig unverdaulich fanden, während nach *Katayama* zwei mit Anus praeternaturalis versehene Hähne die Rohfaser von Gerste bis zu 2,5, von Weizen und Reis bis 4,6, Reis und Kleemehl bis 5,6 Proz., von Kartoffelpülpe + Weizen bis 12,9 Proz. verdauten, Werte, die mit *Völtz*' Angabe der Resorbierbarkeit von Roggen- und Kartoffelrohfaser bis zu 4 bis 8 Proz., ebenso mit *Sokolowskas* Befund einer gewissen Assimilierbarkeit der Rohcellulose von Weizen und Kartoffeln, zusammenstimmen. Hiernach kommt für die Verdauung pflanzlicher Zellinhalte, wohl infolge der verhältnismäßig geringen Darmlänge und des für ausgiebige Bakterienwirkung zu raschen Durchgangs der Futtermassen, eine Auflösung von Zellwänden kaum in Betracht. Die Ausverdauung der Zellen könnte also nur durch Eindringen der Fermente erfolgen, oder sie müßte sich auf die durch mechanische Verletzung der Zellwandung eröffneten Zellen beschränken. Letzteres würde *Rubners*[12]) Befunden an Weizenkleie im menschlichen Kote entsprechen.

---

1) *Biedermann* und *Moritz*, Pflügers Arch. **78**, 219, 1898.

2) *Alexandrowicz*, ebendaselbst **150**, 57, 1913; s. auch *G. Haberlandt*, Beitr. z. allgem. Bot. **1**, Heft 4, 1918.

3) *Biedermann*, Pflügers Arch. **174**, 417, 1919.

4) *Schmidt* und *Strassburger*, Die Fäzes des Menschen, S. 219. Berlin 1915.

5) *Weiske*, Journ. f. Landw. 1878, S. 26.

6) *v. Knieriem*, Zeitschr. f. Biol. **21**, 67, 1885.

7) *Weiser* und *Zaitschek*, Pflügers Arch. **93**, 98, 1903.

8) *Biedermann*, Wintersteins Handb. d. vergl. Physiol. **2**, 1, S. 1314, 1911.

9) *T. Katayama*, Bull. Imper. Agricult. Experiment Station Japan, Tokio **3**, 1, 1924.

10) Siehe Ber. über d. ges. Physiol. **29**, 82, 1924.

11) *Völtz*, Landwirtsch. Jahrb. **38**, 553, 1909.

12) *Rubner*, Zeitschr. f. Biol. **19**, 75, 1883.

Ebenso habe ich nun schon vor Jahren in Jena wiederholt beobachtet, daß in den Fragmenten der Kleberschicht von Weizenkörnern im Kote von Tauben und Hühnern völlig leere und ausverdaute Zellen nur am Rande der Fragmente vorkommen, wo die Zellen stark verletzt und dadurch eröffnet sind. Zugleich war auffallend, daß sich manche dieser deutlich eröffneten Zellen nicht als völlig ausverdaut und leer erwiesen, daß in ihnen vielmehr eine tropfige Entmischung stattgefunden hatte und Fetttropfen zurückgeblieben waren, die der Verdauung entgingen. Wieweit sich eine solche, offenbar durch eingedrungene Fermente bedingte, tropfige Entmischung auch auf uneröffnete Zellen erstreckte, habe ich damals nicht beachtet. Gerade die Wandung der Kleberzellen gilt ja auch in hohem Grade als undurchdringlich für Verdauungsfermente und als Schutz gegen die Einwirkung verdauender Säfte [*Rathay* 1874, *Rubner*[1]), *Möller*[2])]. Allerdings hat *Haberlandt*[3]) schon 1890 darauf hingewiesen, mit welcher Leichtigkeit die Diastase der Kleberzellen die an die Stärkezellen grenzenden Wände durchdringt [von anderen Autoren bestritten, vgl. *Czapek*[4])], während die proteolytischen Verdauungsfermente nicht einzudringen vermochten. Seitdem konnte *Haberlandt*[5]) selbst wie *Biedermann*[6]) zeigen, daß bei Raupen auch die uneröffneten Zellen von Laubblättern im Verdauungskanal ausverdaut werden und daß die Zellmembranen verschiedenen Pflanzenmaterials bei verschiedenen Tieren alle Grade der Verdauung, von diffuser Aufquellung oder lokaler Korrosion bis zur völligen Auflösung erfahren können.

Eine besondere Anregung erhielt die Frage nach dem Eindringen von Verdauungsfermenten in die Pflanzenzelle und nach ihrer Ausverdauung durch die Arbeiten von *Biedermann*[6])[7]), wonach die Stärke in unversehrten Elodeazellen durch eindringende Speichelamylase restlos gelöst werden kann, allerdings nur, wenn die umhüllenden Proteine der Stärkekörner gelöst sind, wonach ferner Pflanzenzellen, gleichgültig, ob roh oder gekocht, von saurem Magensaft so gut wie gar nicht angegriffen werden, auch wenn sie vollkommen eröffnet sind, so daß das pflanzliche Plasma durch seine chemische Zusammensetzung eine fast völlige Resistenz gegen Pepsin und auch Trypsin aufweist, während eine typische Verdauung auch in uneröffneten

---

[1]) *Rubner*, Lehrbuch der Hygiene. 1895.
[2]) *J. Möller*, Zeitschr. f. Biol. **85**, 290, 1897.
[3]) *G. Haberlandt*, Ber. d. deutsch. bot. Ges. 1890.
[4]) *Czapek*, Biochemie der Pflanzen. Jena 1905.
[5]) *G. Haberlandt*, Beitr. z. allgem. Bot. **1**, Heft 4, 1918.
[6]) *Biedermann*, Pflügers Arch. **174**, 393, 1919.
[7]) *Derselbe*, ebendaselbst **174**, 359, 1919; Flora **11**, 560, 1918; Pflügers Arch. **202**, 223, 1924.

Pflanzenzellen stattfindet, sobald diese ihrer lipoiden Bestandteile durch Plasmolysieren und Extraktion mit Alkohol, und möglichst noch mit Äther und Chloroform, beraubt sind. Es lag nahe, diese Anregungen aufzunehmen und nun auch mikroskopische Untersuchungen über die Veränderungen der Pflanzenzelle im Tierkörper auszuführen, auf deren Mangel auch *Biedermann* selbst schon hinweist und wie er sie selbst bei verschiedenen Insektenarten vornahm[1]). Besonders für die landwirtschaftlichen Nutztiere mußte sich hieraus ein besseres Verständnis für die sonst nur aus den chemischen Futter- und Kotanalysen bekannte Ausnutzung verschiedener Futterpflanzen ergeben. Eine erste derartige Untersuchung bilden die Versuche des Herrn *Kurt Krüger* aus dem hiesigen Institut, die sich ausschließlich auf die Wirkung der Verdauung normaler Hühner, sowie der künstlichen Verdauung, auf die Körnerzellen von Weizen, Gerste, Hafer, Roggen und auf Salat, Kohl, Gras und Elodea beziehen. Die mikroskopische Untersuchung erstreckt sich auf den Kot, auf Mageninhalt, der den lebenden Tieren entnommen wurde, und auf das der künstlichen Verdauung unterworfene Material.

1. Die Pflanzenzellen im normalen Hühnerkot.

Die Kleberzellen z. B. vom Weizenkorn zeigen im Kotpräparat den schon angedeuteten Befund. Völlig leer sind nur die ausgiebig eröffneten Randzellen der Kleberschichtfragmente. Zellen mit nur kleiner Öffnung enthalten gelegentlich noch Fetttropfen, entweder mehrere kleinere oder einzelne große, während das übrige Plasma herausverdaut ist. In den den Randzellen benachbarten besteht, soweit sie nicht durch kleine Wandverletzungen hindurch entleert sind, hochgradige tropfige Entmischung des Zellinhalts, der ursprünglich aus Proteinkörnern inmitten einer fettreichen plasmatischen Grundsubstanz bestand, in deren Mitte der Zellkern liegt[2]). Der Zustand entspricht ganz demjenigen, den die Pathologie als fettige Degeneration bezeichnet, wie sie *Haberlandt*[2]) auch in absterbenden Kleberzellen auftreten sah und als ein immer zahlreicheres Auftreten stark lichtbrechender Tröpfchen beschreibt, die ihren Reaktionen zufolge aus Fettsubstanz bestehen. In unserem Falle handelt es sich offenbar um eine Herausverdauung des Plasmaeiweißes aus dem Plasma und auch mindestens teilweise aus der Zelle heraus, wobei die Spaltprodukte offenbar die Zellwand passieren, und ein Zurückbleiben von Fetttröpfchen, die zu immer größeren konfluieren.

[1]) *Biedermann*, Pflügers Arch. **174**, 392. 1919.
[2]) *Haberlandt*, Physiologische Pflanzenanatomie, S. 428. Leipzig 1896.

Wie schwer die restlose Verdauung des pflanzlichen Eiweißes erfolgt, zeigt der häufige Befund einer dünnen Substanzfüllung der sonst leer erscheinenden Randzellen. Er erinnert an *Möllers*[1]) Angabe über unverdaute nackte Klebermassen im menschlichen Kot, oder noch eher an das von *Reinke* und *Rhodewald*[2]) als Rückstand pflanzlichen Plasmas erhaltene Protein „Plastin".

Die vom Rande eines Kleberschichtfragments weiter zentralwärts gelegenen Zellen zeigen gewöhnlich etwa von der vierten Reihe an so gut wie keine Inhaltsveränderung durch Verdauung. In die Zellen der ersten Reihen muß demnach proteolytisches Ferment vom Rande her, in die zweite Zellreihe also von den Zellen der ersten her, eingedrungen sein. Dabei ist wohl anzunehmen, daß durch die zwischen den Magensteinchen erfolgende Abtrennung einzelner Fragmente auch die Wandstruktur der nächsten Zellreihen mechanisch verändert wird.

Ein Eindringen von Ferment von der unverletzten Fläche her findet jedenfalls bei der Weizenkleberschicht nicht oder nur in sehr geringem Maße statt. Wenn doch gelegentlich mitten in einem Kleberschichtfragment einige Zellreihen die tropfige Entmischung zeigen, so läßt sich immer auch erkennen, daß hier eine strichweise Ankratzung einiger Zellen stattgefunden hatte, wenn diese auch nicht zu einer sichtbaren Öffnung geführt hat.

Von den anderen Körnerarten ist zu sagen, daß, offenbar infolge der verschiedenen Dicke der Kleberzellenwandung, die Veränderungen durch die Verdauung, die man am Kotpräparat findet, beim Hafer am weitgehendsten, bei Gerste und Roggen dagegen weniger tiefgreifend erscheinen als beim Weizen. Beim Hafer macht es den Eindruck, daß auch mit einem Eindringen der Fermente von der Fläche her gerechnet werden muß. Auch hier ist es aber offenbar wieder nur proteolytisches Ferment, während lipolytisches nicht eindringt; sonst müßten auch die Fetttropfen herausverdaut werden. Dies erscheint um so auffallender, als ja nach *Hansteen-Cranner*[3]) neben Cellulose und Pektinsubstanzen auch lipoide Stoffe sich als konstante Bestandteile der Zellwand aller lebenden Zellen der Blütenpflanzen erweisen ließen, und die Dicke der Cuticula zum Teil durch Fettsubstanzen bedingt ist[4]); während daher Lipoidstoffe auch durch die unversehrte Cellulosehaut in reichlicher Menge durchtreten können[4]), hat sich allerdings gezeigt, daß die Kolloide der Zellwand mit gewissen Salzionen in bestimmtem Mengenverhältnis in Verbindung treten[5]) und daß die Lipoid-

---

[1]) *Möller*, Zeitschr. f. Biol. **35**, 314.
[2]) *Biedermann*, Flora **11**, 509, 1918.
[3]) *Hansteen-Cranner*, Jahrb. f. wiss. Bot. **53**, 536, 1914.
[4]) *Lee* und *Priestley*, s. Ber. über d. ges. Physiol. **28**, 392, 1924.
[5]) *Hansteen-Cranner*, l. c.

komponente unter dem Einfluß der Ionen nach *Czaja*[1]) Änderungen ihres Dispersitätsgrades und ihrer Permeabilität erfährt. Mit solchen ist jedenfalls unter der Einwirkung der Verdauungssäfte zu rechnen.

Eine Steigerung der Ausverdauung der Kleberzellen ließ sich bei unseren Hühnern erzielen durch Verfütterung der Körner in grobgeschrotenem Zustand, die durch die Magensteinchen feiner zerkleinert werden, so daß die Kleberschichtfragmente dann, ihrem kleineren Umfange entsprechend, größtenteils aus „Randpartien" bestanden. Allerdings fanden sich dann im Kot oft größere Mengen unverdauter Stärke wieder, vielleicht weil die schon zerkleinerten Körner schneller den Verdauungskanal passieren.

Im Gegensatz zu den Körnern erfahren *Salate*, *Gras*, *Kohlblätter*, *Elodea* als Hühnerfutter eine viel ausgiebigere Verdauung, so daß sich im Kotpräparat auch die unverletzten Zellen meist vollkommen ausverdaut erwiesen.

Wieweit bei den beschriebenen Veränderungen ein

2. *Einfluß der Magenverdauung*

beteiligt war, wurde durch Versuche nach dem Verfahren *Spallanzanis* festgestellt, indem die verschiedenen Futterarten, die Körner in kleinen Bruchstücken, in einer durchlöcherten Metallkapsel eingeschlossen und in dieser in den Muskelmagen hungernder Hühner geschoben und nach 24 Stunden zur mikroskopischen Untersuchung am Bindfaden wieder herausgezogen wurden. Hierbei trat als einzige Veränderung bei Gras-, Kohl- und Elodeablättern eine Plasmolyse auf, wie sie dann ebenso in vitro durch 0,3 proz. HCl hervorgebracht werden konnte. Auch die Umwandlung von Chlorophyll in braunes Chlorophyllan wurde als Säurewirkung beobachtet, wie sie *Biedermann* bei Elodea beschreibt.

Eine Pepsinwirkung ließ sich weder in den Kapselversuchen noch in vitro mit Pepsin-HCl feststellen; besonders die Kleberzellen zeigten selbst nach 72 Stunden keine Veränderungen.

Die Veränderungen im Kotpräparat mußten hiernach im wesentlichen während der Darmverdauung erfolgt sein.

3. *Der Einfluß der Darmverdauung*

wurde nun durch künstliche Verdauungsversuche näher geprüft. Bruchstücke der Körnerarten zeigten dabei nach 24 Stunden Aufenthalt im Brutschrank unter Trypsinwirkung nur beim Hafer leichte tropfige Entmischung, nach 48 Stunden war diese stärker und auch beim Weizen

[1]) *Czaja*, Pflügers Arch. **206**, 554, 1924.

ausgeprägter. Ein wenn auch langsames Eindringen von Trypsin in die Kleberzellen mußte hiernach angenommen werden, während gleichartige Versuche mit Elodea, wie bei *Biedermann*, negativ ausfielen, ebenso solche mit Gras.

Einen außerordentlichen Einfluß zeigte nun die Vorbehandlung der Körner mit Alkohol, wie sie zunächst auch nach *Biedermann* an Elodeablättern bestätigt wurde. Hatten die Körner zunächst 24 Stunden in Alkohol gelegen, worin übrigens auch nach 48 Stunden mikroskopisch keine Veränderung eintrat, so war, besonders bei Hafer und Weizen, sowohl in Pepsin wie in Trypsinlösung nach 48 Stunden eine beginnende tropfige Entmischung zu sehen, nach 24 Stunden langer Behandlung mit Pepsin und darauf ebensolanger mit Trypsin war dagegen eine weitgehende Ausverdauung eingetreten und viele Zellen leer, nur vereinzelte kaum verändert.

Ziemlich die gleiche Wirkung wie die Vorbehandlung mit Alkohol, die nach *Biedermann* auf einer Lösung von Membran- und Plasmalipoiden beruht, zeigte eine solche mit einer Lipaselösung, eine bessere Wirkung noch die mit Äther.

Hiermit war der Erfolg der Darmverdauung wohl nachgeahmt, doch, außer bei der Lipase, durch andere Mittel erzielt, als sie dem Tiere selbst zur Verfügung stehen. Wenn wir für die eben angeführten Versuche mit *Biedermann* die Lipoidlösung als Vorbedingung für die proteolytische Verdauung des Pflanzenzellinhalts ansehen, so bleibt noch die Frage offen, ob sie die einzig mögliche Vorbereitung darstellt und bei der Verdauung der Herbivoren auch durch Lipasen und Lipoidasen in der Magen-Darmverdauung verwirklicht wird. Insbesondere erhob sich die Frage, ob schon die Pepsin-HCl- und Trypsinalkaliwirkung selbst eine der Lipoidlösung ähnliche ist, oder ob noch ein weiteres Agens im Verdauungskanal anzunehmen ist, das zu einer Lipoidlösung führt. Versuche in vitro ergaben nun, daß auch die aufeinanderfolgende Behandlung mit 0,3 proz. HCl, Pepsin- und Trypsinlösung ausreicht, um an Fragmenten der verschiedenen Körnerarten eine beträchtliche tropfige Entmischung herbeizuführen. Diese künstliche Verdauung schien aber doch nicht den hohen Grad anzunehmen, wie nach Vorbehandlung des Materials mit lipoidlösenden Mitteln. Zunächst kann daher, sofern die verwendeten Trypsinpräparate als lipasefrei angesehen werden dürfen, nur gesagt werden, daß auch ohne besondere Lipoidlösung die Pepsin-Trypsinverdauung zu einer gewissen Aufschließung des pflanzlichen Zellinhalts führen kann, während für die Verdauung im Tierkörper wohl die Wirkung von Lipoidasen und Lipasen als Vorbereitung für die Proteolyse hinzukommt. Denn es handelte sich ja auch nach *Biedermanns* Versuchen wohl nicht allein um Lösung lipoider,

sondern auch echter Fettsubstanzen, da die Extraktion mit Äther und Chloroform sich als noch wirksamer erwies als die mit Alkohol[1]).

Einige Erfahrungen seien aus den Versuchen des Herrn *Krüger* noch angefügt, die sich auf den

4. Einfluß des Kochens auf die Verdauung der Pflanzenzellen

beziehen. Vorheriges Kochen des Körnerfutters erwies sich nach dem Ergebnis der Kotpräparate bei den verschiedenen Körnerarten durchweg als ungünstig, insofern als sich hier nur geringere Veränderungen feststellen ließen, die besonderes beim Hafer gegenüber der starken Ausverdauung des ungekochten Materials auffielen. Ebenso nachteilig erwies sich das vorherige Kochen bei den Versuchen mit darauffolgender Alkoholextraktion und anschließender Verdauung mit Pepsin-Trypsin, indem im Gegensatz zum rohen Material fast gar keine Veränderung des mikroskopischen Bildes eintrat.

Ob diese Verschlechterung der Eiweißverdauung ihren Grund in einer Koagulation des Eiweiß hat oder ob die Zellmembran durch das Kochen eine größere Resistenz gegen das Eindringen von Fermenten annimmt, und welche ihrer Komponenten dabei beteiligt sind, ob insbesondere die Lipoidlöslichkeit irgendwie indirekt beeinträchtigt wird, bleibt zunächst noch offen.

Zusammenfassung.

Bei der Taube ist, nach Versuchen mit Stärkefütterung und mikroskopischer Untersuchung des Magendarminhalts, an der diastatischen Aufschließung allein die Darmverdauung beteiligt. Im Kropfe findet keine Arrosion der Stärkekörner statt, im Muskelmagen nur unter Einwirkung zurückgetretenen Darminhalts. Die Dünndarmverdauung setzt dicht unterhalb des Pylorus so intensiv ein, daß schon 5 cm weiter neben den arrodierten meist nur noch einige intakte Stärkekörner zu finden sind. 50 cm unterhalb des Pylorus (halbe Darmlänge) sind nur noch wenige Stärkekörner übrig. Die der Auflösung und Resorption entgangenen Stärkekörner sammeln sich mit Cellulioseresten in der Kloake. Auch bei alleiniger Stärkefütterung kommt es zu einer verhältnismäßig hohen Ausnutzung.

Die Verdauung der Kleberzellen bei Körnerfütterung der Hühner geht nur bis zur völligen oder teilweisen Entleerung der mechanisch eröffneten, und bis zu tropfiger Entmischung des Inhalts der dem Rande der Fragmente benachbarten Zellen, wobei Fetttropfen zurückbleiben. Bis zu einem geringen Grade, am meisten noch bei Hafer, und verstärkt bei geschrotenen Körnern, dringen im Darm, wie beim künstlichen

[1]) *Biedermann*, Pflügers Arch. **174**, 380 1919.

Verdauungsversuch, proteolytische Fermente durch die Zellwand der Kleberzellen ein. Die Zellen von Gras, Salat, Kohl- und Elodeablättern erweisen sich im mikroskopischen Kotpräparat als weitgehend ausverdaut.

Da im Hühnermagen wie in vitro durch Pepsin-Salzsäure keine Veränderung des Körnerzellinhalts und nur Plasmolyse der Blätterzellen eintritt, so beschränkt sich auch die Proteolyse des Pflanzenzellinhalts auf den Darm. Sie kann auch durch Pepsin und Trypsinlösungen herbeigeführt und durch Vorbehandlung des pflanzlichen Zellmaterials mit Alkohol oder Alkohol- und Ätherextraktion oder mit Lipase außerordentlich verstärkt werden.

Vorheriges Kochen der Körner setzt die Eiweißverdauung im natürlichen und künstlichen Verdauungsversuch beträchtlich herab.

Über die bei der Sauerfutterbereitung entstehenden flüchtigen Fettsäuren.

I. Mitteilung: Elektrosilage von Mais.

Von

Carl Brahm.

(Aus dem tierphysiologischen Institut der Landwirtschaftlichen Hochschule Berlin.)

(Eingegangen am 29. Januar 1925.)

Für die deutsche Landwirtschaft war die während der Kriegsjahre zunehmende Futternot die Veranlassung, den Futterbedarf der heimischen Viehbestände durch eine gesteigerte einheimische Futtererzeugung zu vermehren. Zu diesem Zwecke wurde angestrebt, den Anbau eiweißreicher Futterstoffe zu vermehren und dieselben mit möglichst geringen Verlusten zu konservieren. Das einfachste Verfahren, grüne Futterstoffe in einen genügend haltbaren Zustand überzuführen, ist das Austrocknen an der Luft. Gelänge es in der Praxis, diesen Trocknungsgrad mit einfachen Mitteln und ohne Verlust an Pflanzensubstanz zu erreichen, so würde diese Konservierungsmethode nur wenig zu wünschen übrig lassen. Immerhin betragen bei der Dürrheubereitung bei kurzer Trocknungszeit die Atmungsverluste schon 20 bis 30 Proz. der Stärkeeinheiten des Grases. Die mechanischen Verluste durch abgefallene Pflanzenteile machen etwa 10 Proz. und die Verluste durch abnehmende Wertigkeit ebenfalls 10 Proz., also zusammen 40 bis 45 Proz. aus. Bei ungünstigem Wetter steigern sich diese Verluste noch erheblich. Dieses natürliche Trocknungsverfahren ist für solche vegetabilischen Substanzen, die wegen ihres hohen, natürlichen Wassergehalts und ihrer fleischigen Beschaffenheit eine genügende Austrocknung an der Luft nicht gestatten, ungeeignet. Für solche Vegetabilien wird schon seit längerer Zeit die Einsäuerung als Konservierungsmethode empfohlen und angewandt. Die Futterpflanzen werden in gemauerten Gruben, in Gärkammern oder in gemauerten Türmen (Silos) dem Gärverfahren unterworfen. Während in der Schweiz

und besonders in Amerika diese Konservierungsmethoden in ausgedehntestem Maße in der Praxis angewandt werden, hat sich die deutsche Landwirtschaft erst in den letzten Jahren diesen Methoden wieder zugewandt.

Wenn man wasserhaltige organische Substanzen in einem von der Luft ziemlich abgeschlossenen Raume längere Zeit aufbewahrt, so treten in denselben mancherlei Veränderungen auf. Sind die eingelagerten Materialien noch lebensfähig, z. B. grüne vollsaftige Pflanzenteile, so unterhalten deren Zellen bis zu ihrem Absterben zunächst eine Atmung, bei welcher stickstofffreie Substanzen verbraucht und Eiweißstoffe zerstört werden. Sind die Pflanzen noch durch Häckseln zerkleinert, so wird die Atemtätigkeit infolge der vergrößerten Oberfläche erheblich gesteigert. Der zunächst reichlich vorhandene Sauerstoff wird gebunden, beruhend nach der Ansicht *Palladins*[1]) auf der katalytischen Wirkung von Enzymen. Gleichzeitig setzt aber in solchem Material, zunächst an den verletzten Stellen, in dem austretenden Zellsaft und nach dem Absterben der Zellen in der ganzen Pflanzenmasse die Tätigkeit von Mikroorganismen ein. Es sind hauptsächlich Hefen, Fäulnisbakterien, besonders aber die Erreger der Essigsäure-, Buttersäure-, Milchsäure- und Methangärung. Je nach den vorherrschenden Verhältnissen, wie Temperatur, Wassergehalt, Nährstoffgehalt oder Luftzutritt, gewinnt bald die eine, bald die andere Art dieser Mikroorganismen die Oberhand. Die Tätigkeit derselben führt zur Bildung von Abbauprodukten, besonders Alkohol und organischen Säuren. Bei gut geleiteter Einsäuerung gehen diese Zersetzungsprozesse nicht ungestört weiter, sondern es tritt nach einer gewissen Zeit ein Stillstand ein. Einmal wird durch die bei der Vergärung auftretende Wärme ein Zerfall der Enzyme herbeigeführt, die in den abgestorbenen Pflanzen nicht mehr ergänzt werden können, und schließlich wirken sowohl die bei der intramolekularen Atmung wie der Bakterientätigkeit entstandenen Produkte schädigend. Den stärksten Sauerstoffbedarf haben die Essigsäurebakterien, deren Temperaturoptimum bei 20 bis 30° C liegt. Buttersäurebakterien vegetieren ohne besondere Sauerstoffzufuhr und entwickeln sich am kräftigsten bei 35 bis 40°, während das Wachstumsoptimum der Milchsäureerreger bei 50° C liegt. Letztere gedeihen auch ohne besonderen Luftzutritt. Alle diese Mikroorganismen bedürfen eines kohlenhydrathaltigen Nährbodens und ziemlich großer Wassermengen. Ist das zu konservierende Pflanzenmaterial reich an Eiweißstoffen, dagegen arm an Kohlenhydraten, so finden die Fäulnisbakterien die zu ihrem Fortkommen günstigen Bedingungen.

---

[1]) W. *Palladin*, diese Zeitschr. 18, 176, 1909.

So mannigfach auch die Entwicklungsmöglichkeiten der Mikroorganismen im Gärfutter sind, so verschiedenartig sind auch die Richtungen, in welchen sich die stofflichen Veränderungen des derartigen Vorgängen ausgesetzten Pflanzenmaterials bewegen. Die Anwesenheit großer Mengen von Wasser und der stets überwiegende Gehalt der Futterpflanzen an Kohlenhydraten sowie der herrschende Sauerstoffmangel im Silo begünstigen vor allem die Vermehrung der Milchsäurebakterien. Wenn auch unmittelbar nach dem Einfüllen der Pflanzenmassen in den Silo oder die Gärkammer so viel Luft mit eingeschlossen wird, daß auch Essigsäurebakterien gedeihen können, so stellen dieselben doch nach dem Verbrauch des Sauerstoffs bald ihr Wachstum ein. Ähnlich ergeht es den Buttersäurebakterien, deren Entwicklung durch die Anwesenheit gewisser Mengen freier Milchsäure mehr und mehr beeinträchtigt wird. Bei gut geleiteter Einsäuerung erlangen die Milchsäurebakterien das Übergewicht. Dieses Ziel zu erreichen, wird von sämtlichen Einsäuerungsmethoden angestrebt. Die günstigsten Bedingungen will man durch sofort einsetzende Temperatursteigerungen erreichen. Man wählt dazu einmal die Selbsterhitzung der zerkleinerten Pflanzenmassen, oder man ist bestrebt, durch künstliche Wärmezufuhr ein möglichst rasches Ansteigen der Temperatur des Siloinhalts zu erzwingen. Durch Zusammenpressen der Pflanzenmassen sucht man die Entwicklungsmöglichkeiten für Essigsäure- bzw. Buttersäurebakterien auszuschließen, da hierdurch die mit Luft gefüllten Zwischenräume verschwinden. Die Zuführung der Wärme erzielt man in den sogenannten Elektrosiloanlagen durch den elektrischen Strom. Bei der Behandlung mit Wechselstrom bzw. Drehstrom der meistens bei den Großanlagen in Anwendung kommt, wird durch den Widerstand, den die ganze Pflanzenmasse dem Durchgang des Stromes bietet, eine Steigerung der Temperatur herbeigeführt. In der Praxis ist man, wie oben ausgeführt, bestrebt, ein Fertigprodukt zu gewinnen, das möglichst wenig Essigsäure oder Buttersäure enthält. Bestehen die flüchtigen Säuren vorwiegend aus Essigsäure bzw. aus Buttersäure, so spricht man vom eigentlichen Sauerfutter, während das Futter mit vorwiegend Milchsäure als Süßfutter bezeichnet wird. Über die Natur der sich bei diesen Gärungsprozessen bildenden flüchtigen Säuren nahm man bisher an, daß sie hauptsächlich aus Essigsäure und Buttersäure bestehen[1]). Unter Umständen sollen Spuren von Ameisensäure und Valeriansäure vorkommen[2]). Propionsäure wurde bisher in Süßgrünfutter nicht nachgewiesen. Nach

[1]) *E. Crasemann*, Landwirtsch. Versuchsst. **102**, 123, 1924.

[2]) *G. Wiegner*, Mitt. a. d. Gebiete d. Lebensmittelunters. u. Hyg. **10**, 3—4, 1919.

Beobachtungen amerikanischer Forscher[1][2]) soll in Maissilage Propionsäure in größeren Mengen vorkommen.

Ein günstiges Objekt zum Studium dieser Fragen bot sich mir in dem aus einer Elektrosiloanlage nach Einsäuerung von Mais abfließenden Safte. Derselbe befand sich in voller Gärung. Mir standen etwa 20 Liter dieser stark sauren Flüssigkeit zur Verfügung. Ich möchte nicht versäumen, an dieser Stelle Herrn Güterdirektor Dr. *Ruths* und Herrn Administrator *Hansen* für ihr freundliches Entgegenkommen bestens zu danken. Der stark saure Saft wurde zunächst kongosauer gemacht, um auch die gebundenen flüchtigen Säuren zu erfassen, und dann portionsweise der Destillation im Wasserdampfstrom unterworfen. Die in großen Mengen anfallenden Destillate wurden mit reinem Natriumhydroxyd schwach alkalisch gemacht und auf dem Wasserbade zur Trockne gebracht. Die hierbei restierenden Salze wurden in wenig Wasser gelöst, in einen Scheidetrichter gebracht, mit alkoholfreiem Äther überschichtet und durch Zugabe von 50proz. Schwefelsäure zersetzt. Die Extraktion mit Äther wurde viermal wiederholt. Die Hauptmenge des Äthers wurde unter Benutzung eines Birektifikators abgetrieben. Der Rückstand wurde über geglühtem Natriumsulfat getrocknet und der fraktionierten Destillation unterworfen. Hierbei wurden nachstehende Fraktionen aufgefangen:

1.	Kp. bis 40° C	Ätherhaltiger Vorlauf
2.	„ 41 bis 103° C	22,6 g
3.	„ 104 „ 110° C	13,5 g
4.	„ 111 „ 120° C	9,0 g
5.	„ 121 „ 130° C	14,0 g
6.	„ 131 „ 140° C	20,0 g
7.	„ 140 „ 160° C	10,0 g
8.	„ 161 „ 165° C	4,0 g
9.	„ 166 „ 175° C	3,0 g
10.	„ 176 „ 185° C	6,0 g
11.	„ 186 „ 196° C	5,0 g
12.	„ 197 „ 210° C	3,0 g

Die letzte Fraktion, die zwischen 211 bis 220° C überging, war durch Überhitzung zersetzt. Aus den Fraktionen 4, 6, 8, 11 und 12 wurden Silbersalze hergestellt, die nachstehende Silberwerte zeigten.

Fraktion 4: 0,2224 g ergaben 0,1452 g Ag.

Berechnet für Silberacetat $C_2H_3O_2Ag$ = 64,67 Proz. Ag; gefunden 64,07 Proz. Ag.

Fraktion 6: 0,3015 g Substanz ergaben 0,1782 g Ag.

Berechnet für Silberpropionat $C_3H_5O_2Ag$ = 59,67 Proz. Ag; gefunden 59,10 Proz. Ag.

[1]) *S. M. Babcock* und *H. L. Russel*, Wisconsin Experiment. Stat. 17; Ann. Report. 1899/1900, 123—141, 1900.

[2]) *Ray E. Neidig*, Journ. of Agricult. researd. 14, 395, 1913.

Fraktion 8: 0,5492 g Substanz ergaben 0,3065 g Ag.

Berechnet für Silberbutyrat $C_4H_7O_2Ag$ = 55,38 Proz. Ag; gefunden 55,85 Proz. Ag.

Fraktion 11: 0,2676 g Substanz ergaben 0,1358 g Ag.

Berechnet für Silbervalerianat $C_5H_9O_2Ag$ = 51,67 Proz. Ag; gefunden 50,76 Proz. Ag.

Fraktion 12: 0,2205 g Substanz ergaben 0,1078 g Ag.

Berechnet für Silbercapronat $C_6H_{11}O_2Ag$ = 48,43 Proz. Ag; gefunden 48,88 Proz. Ag.

Die Fraktionen 2 und 3 konnten durch weitere Behandlung so gereinigt werden, daß 11 g einer Fraktion erhalten wurden, die einen Siedepunkt von 116° C aufwies und ein Silbersalz gab, welches für Silberacetat stimmende Werte ergab. Die Fraktionen 3 und 4 bestehen also aus Essigsäure, Fraktion 6 aus Propionsäure, Fraktion 8 aus Buttersäure, Fraktion 11 aus Valeriansäure und Fraktion 12 aus Capronsäure. Die Fraktionen 10 und 11 waren optisch aktiv. Es wurde für Fraktion 10 (Kp. 176 bis 185°) eine Ablenkung von + 1,5° und für die bei 186 bis 196° C siedende Fraktion eine solche von + 1,6° abgelesen. Aus diesem optischen Befund läßt sich ein Gehalt von 9,0 bzw. 8,5 Proz. an rechtsdrehender Methyläthylessigsäure annehmen, unter Zugrundelegung des spezifischen Drehungsvermögens der Methyläthylessigsäure von + 17,30°. Ob die unter den flüchtigen Säuren noch aufgefundene Capronsäure aus der normalen besteht oder eine aktive Form derselben darstellt, konnte wegen Mangel an Material noch nicht entschieden werden. Es sei hier an die Untersuchungen von *Neuberg* und *Rosenberg*[1]) erinnert, welche bei der Fäulnis von Eiweißstoffen die Säuren der 5- und 6-Kohlenstoffreihe in der optisch aktiven Form isolieren konnten.

Was die Bildung dieser Säuren angeht, so kann dieselbe einmal proteinogener, aber auch saccharogener Abstammung sein. Milchsäure und Essigsäure dürften vorwiegend durch Aufspaltung der in den eingesäuerten Pflanzenmassen enthaltenen stickstofffreien Extraktstoffe entstehen. Für die Buttersäure können beide Abstammungsformen in Frage kommen. Einmal die proteinogene durch Zersetzung von Eiweißstoffen und der bei der Hydrolyse derselben entstandenen Aminosäuren. Für die Buttersäure dürfte das wichtigste Ausgangsmaterial die Glutaminsäure sein, die nach den Feststellungen *Neubergs* und seiner Mitarbeiter[2])[3]) unter gleichzeitiger Desaminierung und Kohlensäureabspaltung gemäß der Formulierung

$$COOH—CH_2—CH_2—CH(NH_2)COOH \rightarrow COOH—CH_2—CH_2—CH_2—CH_3$$

oder

$$COOH—CH_2—CH_2—CH(NH_2)COOH \rightarrow CH_3—CH_2—CH_2—COOH$$

[1]) *C. Neuberg* und *E. Rosenberg*, diese Zeitschr. 7, 178, 1908.

[2]) *W. Brasch* und *C. Neuberg*, ebendaselbst 13, 209, 1908.

[3]) *W. Brasch*, ebendaselbst 18, 380, 1909.

in Buttersäure umgewandelt wird. Aber auch die saccharogene Abstammung kommt für die Buttersäure in Frage. Der Abbau der bei der Entstehung der Buttersäure zerfallenden Kohlenhydrate findet nach den Untersuchungen *Neubergs* und *Arinsteins*[1]) ebenfalls über die Brenztraubensäure statt. *Neuberg* bezeichnet die Buttersäuregärung als vierte Vergärungsform biochemischer Zuckerspaltungen. Die Bildung von Essigsäure und Milchsäure läßt sich auf eine bei der Pflanzenatmung ablaufende Fermentwirkung beziehen. In diesem Zusammenhang sei auch auf die Arbeit von *Babcock* und *Russel*[2]) verwiesen, denen es gelang, aus anästhetisiertem Ausgangsmaterial, also ohne Mitwirkung von Bakterien, eine Säuerung zu erhalten. Unter gewöhnlichen Verhältnissen dürften beide Faktoren, die bakterielle Tätigkeit und die Tätigkeit pflanzlicher Enzyme, bei den Einsäuerungsvorgängen eine Rolle spielen.

Zusammenfassung.

Bei der Einsäuerung von Mais wurden aus dem gärenden Material an flüchtigen Fettsäuren: Essigsäure, Propionsäure, Buttersäure, Valeriansäure, Methyläthylessigsäure und Capronsäure nachgewiesen. Ameisensäure wurde nicht gefunden.

Fräulein *Gertrud Andresen*, die mich bei der Ausführung dieser Arbeiten sehr wesentlich unterstützte, sei mein bester Dank ausgesprochen. Die Untersuchungen werden fortgesetzt.

---

[1]) *C. Neuberg* und *B. Arinstein*, diese Zeitschr. **117**, 269, 1921.

[2]) *S. M. Babcock* und *H. L. Russel*, Zentralbl. f. Bakteriol., Abt. II, **9**, 81, 1902.

Untersuchungen des Sauerstoffbindungsvermögens des Blutfarbstoffes mit der Ferricyanidmethode.

Von

Sogi Masuda.

(Aus dem tierphysiologischen Institut der landwirtschaftlichen Hochschule Berlin.)

(Eingegangen am 12. November 1924.)

Einleitung.

Bei der Aufklärung verschiedener physiologischer und pathologischer Einflüsse, besonders auf das Blut, wollten wir uns der *Haldane-Barcroft*schen Ferricyanidmethode bedienen. Nach den Angaben in den neuesten Handbüchern sollen die Werte für eine quantitative Bestimmung des gebundenen Sauerstoffs zuverlässig sein. In der Originalliteratur selbst aber finden sich Unterschiede, die gegen diese Angabe Bedenken erregen. Im Verlauf unserer Untersuchungen machten wir verschiedene Beobachtungen, die auf Vorgänge und Reaktionen schließen ließen, die uns Zweifel an der Brauchbarkeit der Methode an frischem Blut aufdrängten. Es war deshalb eine systematische Durcharbeitung — unter Hintansetzung der in Angriff genommenen Fragen — notwendig, denn zuerst mußten die Zweifel, ob die Methode trotz ihrer vielfachen Anwendung und ihrer Empfehlung von verschiedenen Seiten und trotz ihres verhältnismäßig hohen Alters Fehler ausschließt oder nicht, behoben sein. Nach dem schwierigen Weg, der uns zu einer Aufklärung führen sollte, können wir ein Urteil *Barcrofts* über das Ferricyanid vollkommen verstehen, nämlich seine Worte: Es wäre von großem Vorteil, wenn man auf dieses Reagens ganz verzichten könnte!

I. Die Vorgänge bei der Hämolyse.

1. Das Verhalten des Blutfarbstoffs gegenüber dem Lösungsmittel.

Es sind zwei verschiedene Gründe, die die Bestimmung des Sauerstoffs in frischem Blut ungenau und nicht eindeutig machen:

1. Die zur Hämolyse und zum Alkalischmachen benutzte Ammoniaklösung,

2. das Verhalten des Blutfarbstoffs gegenüber dem Gasraum.

Einfluß a) des Ammoniaks und b) des destillierten Wassers + Saponin als Hämolysine auf das Blut.

Barcroft schreibt vor, man soll zum Hämolysieren und Alkalischmachen des Blutes eine Ammoniaklösung nehmen, die 4 ccm starken Ammoniaks auf 1000 ccm destillierten Wassers enthält. *W. Klein*[1]) machte nun beim Arbeiten mit der Ferricyanidmethode am frischen Blut verschiedener Tierarten die Beobachtung, daß, nachdem der Temperaturausgleich zwischen dem Inhalt der Glasbirnchen und dem Wasserbade erfolgt war, wobei von Zimmertemperatur (14 bis 15°) auf eine höhere Temperatur (25 bis 38°) gegangen wurde, beim Schütteln zwecks Hämolysierens die beiden Menisken sich häufig nicht verschoben, aber daß nicht selten eine Volumenzunahme oder sogar eine Volumenabnahme auf Seite der Blutflüssigkeit erfolgen kann, die man nur als *Sauerstoffaufnahme* (Zehrung) erklären kann. Eine genauere Analyse der Endreaktion nach Hinzufließenlassen des Ferricyanids mit Hilfe eines *Hüfner*schen Spektrophotometers brachte das überraschende Ergebnis, daß häufig gar *nicht* bei *alkalischer Reaktion* gearbeitet wurde; denn das Spektroskop zeigte neutrales Met.-Hb. an. Um alkalisches Met.-Hb. zu erhalten, waren noch stärkere Ammoniaklösungen nötig, die aber je nach der Tierart schwankten. (Auf diese Reaktion wird in einer besonderen Abhandlung näher eingegangen.) Im Gegensatz zu Ammoniak ergaben sich bei Benutzung von destilliertem Wasser andere Ergebnisse. Hier tritt immer eine Volumzunahme auf. Entsprechend dem dissoziablen Charakter des Blutfarbstoffs wird ganz allgemein Gas bei der höheren Temperatur und gleichbleibendem Partialdruck in den Luftraum des Birnchens abgegeben.

An einigen Beispielen möge das Verhalten des Blutes zu Ammoniaklösungen gezeigt werden (s. Anhang, Tabelle III).

Verwendet wurde ganz frisches defibriniertes Blut, das an der frischen Luft durch längeres Schütteln mit Sauerstoff gesättigt wurde. Es wurde entweder sofort verarbeitet oder bei einer Temperatur unter 0° aufbewahrt. Die Menge des austreibbaren Sauerstoffs eines so behandelten Blutes änderte sich auch nach 24 Stunden nicht, nötig war nur, daß das Blut *öfters* mit Luft geschüttelt wurde. Blut, das schon einen Stich in das *Violette* zeigte, wurde nicht mehr verwendet, weil hier sehr störende Nebenreaktionen auftraten, auf die ich später kurz eingehen werde.

[1]) *W. Klein*, Die Konzentration des Lösungsmittels als Fehlerquelle bei der Ferricyanidmethode. Klin. Wochenschr., 3. Jahrg., Nr. 13, S. 553.

Verwendet wurde 1 ccm Blut und $1\frac{1}{2}$ ccm Barcroftammoniak. Das Blut wurde in eine gleichmäßig weite, 2 ccm haltende Pipette mit einer engen Auslaufspitze gesaugt und 1 ccm langsam unter die Ammoniaklösung geschichtet. Die Schichtung gelang auf diese Weise ausgezeichnet. Das Blut lief von der Glaswand bei langsamen Auslaufenlassen so glatt ab, daß die Pipette klar und durchsichtig erschien. Die geringste oder gar keine Adhäsion zeigte Pferdeblut, so daß bei der leichten Senkbarkeit der Blutkörperchen sehr schnell gearbeitet werden konnte. Die stärkste Adhäsion zeigte Wiederkäuerblut, Menschen-, Hunde- und Schweineblut lagen dazwischen.

Um den Moment des *Temperaturausgleichs* festzustellen, wird der adjustierte Apparat mit offenen Hähnen in das Wasserbad gestellt. Nach einigen Minuten schließt man den Hahn, der zu der Birne führt, die das *Blut* enthält. Solange nun die Menisken der Sperrflüssigkeit sich verschieben, ist dieser Ausgleich nicht erfolgt. Verschieben die Menisken sich nur noch geringfügig, so werden beide Hähne geschlossen. In kurzen Zeitintervallen öffnet man nun einen Hahn gegen die Atmosphäre. Verändern sich dabei die Menisken nicht mehr, so war Temperaturausgleich innerhalb des Systems und mit dem Wasserbade erfolgt. Dann erst wurden durch Schütteln Blut und Lösungsmittel gemischt und das Blut lackfarben gemacht. Das Schütteln wurde so lange fortgesetzt, bis die Menisken im Wasserbade eine Ruhelage erreicht hatten. Diese Werte wurden notiert. Es wurde noch einige Minuten hindurch beobachtet, ob die Menisken sich veränderten. Geschah dieses, so wurde gewartet, bis eine neue Ruhelage erreicht war. Nach Notierung dieser Werte wurde durch Drehen des das Blut enthaltenden Birnchens das Ferricyanid hinzugelassen. Selbstverständlich wurde bei der Adjustierung darauf gesehen, daß nach vollständiger Reinigung und Trocknung der Glasschliffe und nach sorgfältigster Schmierung derselben ihre Dichtigkeit gewährleistet werden konnte. Die nachfolgenden Resultate sind das Ergebnis von mehr als 300 Analysen, die unter allen möglichen Modifikationen durchgeführt wurden.

Die geschilderte *Vorprüfung* wurde an ganz frischem Schlachtblut von Schweinen und Rindern vorgenommen; beim Menschen, Pferd, Schaf und Hund an durch Venenpunktion gewonnenem Blut.

Als Lösungsmittel wurden verwendet: a) Ammoniaklösungen, gewöhnlich in der von *Barcroft* angegebenen Konzentration, oder in stärkerer oder schwächerer Konzentration als die Barcroftlösung;

b) destilliertes Wasser;

c) destilliertes Wasser mit Zusatz von NaOH.

Die beiden letzten Anordnungen wurden noch in der Art modifiziert, daß in den Stutzen, an dem das Birnchen mit Blut angebracht wurde,

eine kleine *Asbestscheibe, getränkt mit Natronlauge*, angebracht war. um die frei gewordene Kohlensäure zu absorbieren und ihre Menge zu bestimmen. Der andere Teil der Versuche wurde ohne diese Absorption durchgeführt.

Bei den Versuchen mit Menschen-, Hunde- und Schweineblut wurde zur Unterstützung der Hämolyse etwas Saponin zugesetzt.

Zu c) ist noch zu bemerken, daß Lösungen bis n/250 NaOH verwendet wurden, ohne daß sich in den Ergebnissen reinem Wasser gegenüber etwas änderte. Wurden noch stärkere Konzentrationen verwendet, so hämolysierte das Blut nicht mehr und bekam eine immer stärkere Viskosität, so daß späterhin die Versuche mit diesen Lösungen aufgegeben wurden. Aus den zahlreichen Versuchen an den Blutarten der verschiedenen Tiere brauchen nur einige Beispiele angeführt zu werden, da sie qualitativ immer im gleichen Sinne verliefen; der quantitative Ausschlag ist bei manchen Blutarten etwas verschieden.

2. *Das Verhalten des Blutfarbstoffs gegenüber dem Gasraum.*

Tabelle I.

Bei gleichem Partialdruck und gleicher Temperatur. [Blut, Lösungsmittel und Wasserbad bei Zimmertemperatur (16°)].

Lösungsmittel	Meniskenverschiebung beim Hämolysieren in cm	Volumenänderung
Wasser ohne CO_2-Absorptionsvorrichtung	0,45	Zunahme
Wasser mit CO_2-Absorptionsvorrichtung	0,4	"
Barcroftammoniak	0,5	Abnahme

Wie Tabelle I zeigt, ergaben sich schon kleine Unterschiede, wenn man bei gleichbleibender Temperatur arbeitet, aber gewöhnlich in dem Sinne, daß bei Ammoniak ein geringer negativer Wert auftritt, bei Wasser ein geringer positiver.

Tabelle II.

Bei gleichem Partialdruck und verschiedener Temperatur. [Lösungsmittel und Blut stehen bei Zimmertemperatur (16°). Die adjustierten Apparate werden dann in verschieden temperierte Wasserbäder gestellt (6, 25, 38°)].

Lösungsmittel	Temperatur	Menisken-verschiebung b. Hämolysieren		Temperatur	Menisken-verschiebung b. Hämolysieren		Temperatur	Menisken-verschiebung b. Hämolysieren	
		Zunahme	Abnahme		Zunahme	Abnahme		Zunahme	Abnahme
	°C	cm	cm	°C	cm	cm	°C	cm	cm
Wasser ohne CO_2-Absorptionsvorrichtung	6	1,0	—	25	2,75	—	38	4,3	—
Wasser mit CO_2-Absorptionsvorrichtung	6	0,4	—	25	2,15	—	38	3,3	—
Ammoniak 4 : 1000 .	6	0	—	25	0	—	38	—	0,8

Steigert oder verringert man die Temperatur des Wasserbades, so werden auch die Werte der Volumenänderungen größer. Bei dem Schütteln gehen nun Kohlensäure und Sauerstoff heraus, wie sich aus dem Vergleich der Zahlen der Tabelle III (s. Anhang) ergibt. Bemerkenswert ist hierbei, daß an dem einmal erreichten Stand bei dem Schütteln *ohne* Absorptionsvorrichtung für CO_2 sich nichts ändert, während bei der Möglichkeit der CO_2-Absorption die Zunahme langsam zurückgeht, um auf neues Schütteln hin wieder zu steigen.

Ohne Zweifel erreicht im ersteren Falle das System Blutlösung—Gasraum sehr rasch einen Gleichgewichtszustand, während bei Anwesenheit einer Absorptionsflüssigkeit ein Gleichgewichtszustand schwer sich herstellt.

Auch bei Verwendung von Ammoniak mit Absorptionsvorrichtung ist der einmal erreichte Meniskenstand bei vielen Blutproben konstant geblieben; aber einige Male haben wir doch mit Blut zu tun gehabt (bezüglich Hammelblut), bei dem die Differenz zurückgegangen ist. Das spektroskopische Ergebnis nach Zugabe von Ferricyanid zeigte allerdings dann reines neutrales Met.-Hb. Dieser Vorgang läßt sich nur mit einer Absorption entwichener CO_2 erklären.

Bei dem langsamen Zurückgehen der Volumenzunahme bei ruhigem Stehen gewinnt man aber doch den Eindruck, daß nicht nur allein CO_2 absorbiert wird, sondern daß auch das Blut wieder etwas Sauerstoff aufnehmen kann. Die Länge der Zeit, bis die Menisken zur Ruhe kommen, spricht nicht für eine alleinige CO_2-Absorption. Es bildet sich zwar in 15 bis 20 Minuten ein labiler Gleichgewichtszustand zwischen Lösung und Gasraum aus, der durch erneutes Schütteln wieder in dem Sinne eines Entweichens von Gas aus der Lösung in den Gasraum gestört werden kann. Diesen Vorgang haben wir bis zu sechsmaliger Wiederholung verfolgt. Das stabile Gleichgewicht läßt sich also viel schwerer erreichen, als beim Nichtabsorbieren der CO_2 und bei Ammoniak als Lösungsmittel.

Die besondere Bedeutung der Versuche liegt darin, daß aus dem ganzen Verhalten des Blutes der *Ammoniaklösung* gegenüber auf eine Reaktion geschlossen werden muß, bei der Sauerstoff dem Blutfarbstoff entzogen wird. In diesem Falle finden wir *neutrales* Met.-Hb. bei Zugabe von Ferricyanid. Es kann aber auch der *zweite* Vorgang eintreten, daß Sauerstoff aus dem Gasraum in die Blutlösung aufgenommen wird. In diesem Falle finden wir *alkalisches* Met.-Hb.

Diese Reaktion zwischen Sauerstoff und NH_3 erfolgt in dem angegebenen Maße nur bei ganz frischem Blut. Es ist dabei an die von *Wuster* gefundene Reaktion zwischen NH_3 und einem Peroxyd zu denken, wobei NH_3 zu HNO_2 oxydiert wird. Darüber sollen weitere Untersuchungen Aufschluß geben.

Bei nicht mehr ganz frischem Blute, das bereits einen Stich ins Violette, aber die Oxyhämoglobinstreifen ganz rein zeigt, treten die gleichen Erscheinungen nur in größerem Ausmaße auf. Die Volumenabnahme wird hierbei weiterhin durch stärkere Ammoniaklösungen vergrößert.

Wird Blut, das in der bei Schlachtblut üblichen Weise mit Salpeter konserviert[1]) ist und durch Einwirkung der Kälte hämolytisch geworden ist, zum Versuch genommen, so tritt auch beim Schütteln bei höherer Temperatur keine Volumenzunahme ein, auch ebensowenig eine Volumenabnahme bei Zugabe von Ammoniaklösung.

II. Die Bestimmung des Sauerstoffs mit der Ferricyanidmethode.

Als die zuverlässigste Art, die Sauerstoffmenge des Blutes zu bestimmen, gilt das Auspumpen der Gase mit nachfolgender Analyse.

Es wurden daher die Resultate dieser Methode verglichen mit denen der Ferricyanidmethode. Dabei gewinnt man beim Studium der Originalliteratur unbedingt den Eindruck, daß bei der Ferricyanidmethode nach *Haldane-Barcrofts* Vorschrift gerade beim genuinen Blut zu niedrige Werte gefunden wurden. Da ich selbst keine Versuche mit der Pumpe gemacht habe, so soll bezüglich der Frage, ob beide Methoden wirklich miteinander verglichen werden können, nur bemerkt werden, daß man mit Ferricyanid und Ammoniak als Lösungsmittel nach Austreiben des Sauerstoffs neutrales bzw. alkalisches Met-Hb., bei Anwendung der Pumpe dagegen reduziertes Hb. erhält.

Siegfried und *Novi*[2]) haben nach Ergebnissen *Schützenbergers*[3]) mit Natriumhyposulfit als Reduktionsmittel die Menge Sauerstoff bestimmt, die von diesem Reagens weggenommen wird. Als Ende dieser Absorption sahen sie den Moment an, bei welchem im Spektroskop die Oxyhämoglobinstreifen verschwunden waren und an deren Stelle der Hämoglobinstreifen getreten war. Sie bemerkten dann, daß im Vakuum aus dem reduzierten Hb. noch Sauerstoff frei gemacht werden konnte. Die Mengen, die *Novi* auf diese Weise bei frischem Hundeblut fand, betragen in 100 ccm frischem definibrierten Hundeblut im Sommer etwa 6 ccm Sauerstoff, im Winter 11 ccm Sauerstoff. Die Pumpe würde ohne Reduktion etwa 25 ccm ergeben. *Novi* nennt den gefundenen Sauerstoff den beweglichen, zumal diese Menge beim Stehen des Blutes rasch abnimmt. Da nun beim Extrahieren in der Pumpe das Endprodukt ebenfalls reduziertes Hämoglobin ist, so hat man also gar kein

[1]) Auf 100 ccm Blut wurden gegeben 5 g Kochsalz, 0,5 g Salpeter und 0,5 g Zucker.

[2]) *I. Novi*, Pflügers Arch. **56**, 1, 1894.

[3]) *Schützenberger* und *Rösler*, Chem. Ber. **6**, 1873.

Kriterium, wann eigentlich die Extraktion vollendet ist. Da nun die einen Untersucher das Blut bis zum Eintrocknen evakuierten, andere bis zu dem Moment, wo an gewissen Anzeichen zu erkennen war, daß ein vollständiges Vakuum erreicht war, da weiterhin die einen das Blut in ein Wasserbad von 40° stellten, andere bis zum Kochen erhitzten, so erhellt daraus die Schwierigkeit, mit Bestimmtheit sagen zu können, nach welcher Vorschrift man die sichersten Werte bekommt. Wie auch aus den Erfahrungen *Bohrs*, die er in *Nagels* Handbuch beschreibt, hervorgeht, haben wir es hier mit einer der schwierigsten Methoden zu tun, die nur unter Einhaltung ganz gewisser Kautelen zu vergleichbaren Resultaten führt.

Dieser Unsicherheit gegenüber besitzt das Ferricyanid den Vorteil, daß sein Endprodukt eindeutig Met-Hb. ist, und zwar gleichgültig, ob man von Oxyhämoglobin ausgeht oder vom reduzierten Hb.

Ganz sicher bestimmt ist das Endprodukt, wenn dem Blute zum Hämolysieren nur Wasser, eventuell mit Saponin als Lysin, zugegeben wird. Bei dieser Anordnung bekommt man immer den reinen Met-Hb.-Streifen in Rot.

Anders ist schon das Endprodukt, wenn Ammoniaklösung zum Hämolysieren verwandt wird. Gewöhnlich ist ein Streifen im Rot, aber auch die beiden Oxy-Hb.-Streifen deutlich zu erkennen. Auch dieses Spektrum wird noch als das des neutralen Met-Hb. bezeichnet; aber ich möchte *Heubner*[1]) beipflichten, der dieses Spektrum nicht mehr als neutrales gelten läßt, sondern nur den scharfen Streifen im Rot allein. Bei manchen Blutarten tritt aber auch das alkalische Met.-Hb. bei der Barcroftammoniaklösung auf. Wie meine Versuche zeigen, ist es für die Menge des austreibbaren Sauerstoffs nicht gleichgültig, ob man Wasser oder Ammoniak nimmt, ob man ein reines neutrales Met.-Hb.-Spektrum oder ein verwaschenes oder gar ein alkalisches Met.-Hb.-Spektrum erhält.

Diese Punkte sind bisher bei der Ferricyanidmethode noch niemals berücksichtigt worden, deswegen mußten sie einer systematischen experimentellen Prüfung unterzogen werden, um Klarheit über die Anwendbarkeit der Methode, die, wie gesagt, trotz neuerer Angaben in Handbüchern, nicht unbestritten ist, zu erhalten.

Versuchsanordnung.

Es mußte zuerst untersucht werden, ob die Mengen Sauerstoff, die bei Wasser und Ammoniak als Hämolysin gefunden werden, gleich sind.

[1]) *W. Heubner* und *H. Rhode*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **100** H. 3–4, S. 119, 1923.

Es wurde immer ganz frisches Schlachtblut oder Blut unserer Institutstiere, direkt aus der Vene entnommen, arterialisiert und verarbeitet. Beim Schlachtblut wurde besonderer Wert auf *rasche* Abkühlung gelegt, und aufbewahrt wurde es bei einer Temperatur unter 0°. dann wurde öfters der Stopfen entfernt und einen Moment mit frischer Luft geschüttelt.

Das Ferricyanid wurde erst dann zugelassen, wenn das Blut tadellos lackfarben geworden war, und nachdem eine eventuelle positive oder negative Verschiebung der Menisken beim Lackigmachen nochmals mit der Außenluft ausgeglichen war. Die Bildung des neutralen Met.-Hb. ist, wie man sich durch Spektralbeobachtung und durch den Farbenwechsel der Blutlösung von leuchtend rot zu honiggelb überzeugen kann, eine fast momentane; ist dagegen ammoniakalische Flüssigkeit verwendet, so ist der Beginn dieser Umwandlung etwas verzögert und der Ablauf etwas verlangsamt. Die Endfarbe hat einen Stich ins Rote. Die Tiefe dieser Farbe hängt davon ab, ob neutrales oder alkalisches Met.-Hb. entsteht.

Wie schon bei der Vorprüfung gezeigt wurde, wird durch Ammoniak die Dissoziierbarkeit des Blutfarbstoffs gewöhnlich aufgehoben, ja es wird sogar nicht selten eine Abnahme aus dem Gasraum festgestellt. Die folgenden Versuche wurden angestellt, um den *Einfluß des Ammoniaks auf die durch Ferricyanid austreibbare Sauerstoffmenge* im Vergleich zu der ohne Ammoniak austreibbaren festzustellen. Wir benutzten die von *Barcroft* vorgeschlagene Lösung, nämlich 4 ccm starkes Ammoniak auf 1000 ccm destilliertes Wasser. Wir wollen diese Ammoniaklösung der Kürze halber hier „Barcroftammoniak" nennen. Soweit es nötig war, wurde zum Hämolysieren noch Saponin verwendet.

Sauerstoffmengen bei Ammoniaklösung und bei Wasser als Lysin, bei ganz frischem Blut.

Schlachtblut von Schweinen		Gas austreibbar aus 100 ccm Blut reduziert auf 0° C und 760 mm		Differenz
	Temperatur °C	bei Wasser ccm	bei Ammoniak ccm	Proz.
1. durch Gefrierenlassen	25	20,81	17,30	20
hämolysiert	33	23,33	17,31	35
2. frisches Blut, Wasser	25	20,85	18,30	13
+ Saponin	38	21,70	18,24	18

Diese Beispiele lassen sich aus den Protokollen beliebig vermehren. Es mußte nun untersucht werden, ob diese Differenz bei gleicher Temperatur nicht allein durch mitausgetriebene CO_2 hervorgerufen wurde. Wir fanden aber bei Wasser auch eine Steigerung bei höherer Temperatur.

während bei Ammoniak ein Einfluß der Temperatur auf die Werte in diesen Beispielen nicht zu bemerken war.

Bevor wir die hierauf bezüglichen Experimente mitteilen, soll vorher noch untersucht werden, wie *andere Alkalien* sich verhalten. Es wurden schwache NaOH-Lösungen verwandt. Als Beispiel sei angeführt: 8 ccm einer n/10 NaOH-Lösung werden mit 192 ccm destillierten Wassers vermischt. Die Alkaleszenz eines Kubikzentimeters dieser Lösung würde ausreichen, um 0,1 ccm CO_2 zu binden.

0,1 ccm in 1 ccm Blut würden auf 100 ccm Blut 10 ccm entsprechen.

Hierbei ergaben sich folgende Werte:

Frisches Schweineblut °C	Sauerstoff bei NaOH + Saponin ccm	Sauerstoff bei Ammoniak ccm	Differenz Proz.
25	23,07	16,11	42
38	25,51	16,52	55

Wie nun die Vorprüfung bei dem Hämolysieren ergeben hat, ist trotzdem CO_2 frei geworden. Denn der Volumenveränderung entsprach eine Zunahme von 2,75 ccm bei 25° bzw. 2,9 ccm bei 38°. Die Natronlauge ist also teilweise anderweitig gebunden worden.

Die Volumenveränderung bei Barcroftammoniak betrug in letzterem Beispiel bei 25° 0,3 ccm Zunahme und 2,15 ccm Abnahme bei 38°.

Da die Reaktion des Ferricyanids mit dem Blutfarbstoff nicht geklärt ist, so war eingehend zu prüfen, ob die gefundenen Differenzen zwischen Ammoniak und Wasser als Lösungsmittel ganz aus CO_2 bestehen, oder wieviel von der Differenz auf CO_2 kommt. Die Lösung dieser Frage schien überaus einfach: Es ließ sich ja im Entwicklungsbirnchen ein Asbestpflöckchen getränkt mit Natronlauge in den Winkel einschieben, der von dem Röhrchen für Ferricyanid mit der Glaswand gebildet wurde. Es wurde die frei werdende Gasmenge zuerst ohne Pflöckchen, dann mit dem Kalilaugepflöckchen bestimmt. Es zeigte sich dabei an der Abnahme der Meniskendifferenzen, daß Gas absorbiert wurde. Es konnte dies eigentlich nur CO_2 sein. Nach vielen derartigen Untersuchungen wurde ich aber doch stutzig. Denn bestimmte man auch den Sauerstoff, der bei Ammoniaklösung austreibbar war, so kam es in guten Versuchen bei Wasser als Lysin und bei Absorption vor, daß die Menge Gas, die trotz häufigen Schüttelns nach der ziemlich lange dauernden Absorption übrigblieb, unter die bei Ammoniaklösung gefundene sank. Es war bei der langen Zeitdauer dieser Absorption mit Sicherheit kaum zu sagen, ob die Reaktion tatsächlich zu Ende war. Diese Erscheinung stimmt mit einer Beobachtung überein, die bei Gasanalysen im hiesigen Institut wiederholt gemacht wurde. Füllte man nämlich in Absorptionsbüretten z. B. des *Zuntz-Geppert*schen

Apparates frische etwa 30 bis 40proz. KOH, so ließ sich nach der ersten Absorption der CO_2 und bei jedesmaligem Zurücktreiben des CO_2-freien Gases in die Lauge und Wiederablesen des Gasvolumens eine ständige Absorption, also Volumenabnahme feststellen. Dieser mißliche Zustand dauerte geraume Zeit, aber nach mehrfachen Analysen blieb dann das Volumen, das nach der ersten Absorption sich ergeben hatte. auch bei wiederholtem Verbringen des Analysengases in die Kalilauge gleich. Es wurden für diese Erscheinung allerhand Gründe gesucht. ohne daß es aber gelungen wäre, die wahre Ursache bis heute genau festzustellen. Einen Scheingrund könnten wir aber sicher ausschließen. daß es sich hierbei nämlich um eine Undichtigkeit des Apparates handelte. Wir müssen vorerst annehmen, daß es sich um eine Gasadsorption handelt, die die bestehenden Ungleichgewichte zum Verschwinden bringt. Nach allen Erfahrungen handelt es sich dabei hauptsächlich um Sauerstoff.

Zur Ausschaltung solcher Störungen wurde deswegen davon abgesehen, das Asbestpflöckchen mit Lauge in dem Schüttelbirnchen jedesmal zu erneuern, vielmehr wurden die Ergebnisse des einmal damit adjustierten Apparats mit denen eines zweiten verglichen. Wie schon gesagt, läßt sich der Moment, wo die starke Lauge ihre oben angenommene Adsorptionswirkung verliert, nicht genau bestimmen. aber wir haben uns häufig mit Lackmuspapier davon überzeugt, daß das Pflöckchen stark alkalisch reagierte. Es muß aber betont werden. daß infolge der aufgetretenen Schwierigkeiten die nachfolgenden Resultate noch nicht ganz endgültig sind. Ein Beispiel möge den Verlauf der Analysen zeigen, von denen eine mit dem unbenetzten Entwicklungsbirnchen, die andere mit dem gleichen, mit Lauge benetzten, ausgeführt wurde:

Versuch mit frischem Schweineblut (ausgewachsene weibliche Tiere). 27. März.

Apparat C	Temperatur °C	Bei Hämolyse Zunahme	Bei Hämolyse Abnahme	O_2 reduziert in 100 ccm Blut ccm
1. unbenetzt	16,5	2,5	—	23,11
2. benetzt	16,5	—	0,4	20,2
3. unbenetzt	25	4,0	—	25,9
4. benetzt	25	—	0,65*)	20,74

*) Hier ging die zuerst sich zeigende Volumenzunahme beim Hämolysieren sogar in eine Abnahme über.

Von Versuchen, die unter den angegebenen Kautelen vorgenommen wurden und die wir als gut ansehen, seien folgende Beispiele gegeben:

Bockblut: Jährling, frisches Blut, Zimmertemperatur 16°.

Adjustierung der Apparate		Temperatur des Wasserbades °C	O_2 reduziert ccm
a) Apparat A, benetzt	Wasser als Lysin	23	17,21
b) „ C, unbenetzt		23	18,67
c) „ C, Ammoniak als Hämolysin		23	11,50
Hammelblut.			
a) Apparat A, benetzt	Wasser als Lysin	23	19,38
b) „ C, unbenetzt		23	20,22
c) „ C, Ammoniak als Lösungsmittel		23	16,5

Hundeblut, frisch, Zimmertemperatur 16°.

Adjustierung der Apparate		Versuchstemperatur °C	O_2 reduziert ccm
a) Apparat C, unbenetzt	Wasser + Saponin als Lysin	16,5	21,98
b) „ A, benetzt		16,5	20,46*)
c) „ *Barcroft*, Ammoniak		16,5	19,62
a) Apparat C, unbenetzt	Wasser als Lysin	35	22,48
b) „ A, benetzt		35	18,85*)
c) „ *Barcroft*, Ammoniak		35	18,05

*) Bei diesem Blut ist mit dem Sauerstoff zugleich auch CO_2 mit herausgetrieben worden. Die Werte a) liegen aber noch höher als bei Barcroftammoniaklösung.

Unsere Versuche zeigen auch, daß sich die Menge CO_2, die beim Entbinden des Sauerstoffs mit herausgeht, bei verschiedenen Tierklassen ändert. Als einen gut gelungenen Versuch möchte ich folgenden in extenso anführen:

7. März[1]). Frisches *Bullenblut*, gesättigt mit Sauerstoff bei 16° (nach Versuchen von *Klein*).

Adjustierung	Versuchstemperatur °C	Meniskenverschiebung beim Hämolysieren ccm	O_2 reduziert in 100 ccm Blut ccm
Unbenetzt	+ 5	1,0	22,81
Benetzt	5	0,4	22,30
Unbenetzt	27	2,75	23,33
Benetzt	27	2,0	23,04
Unbenetzt	38	4,3	22,12
Benetzt	38	3,3	21,90

[1]) Ausführliches Protokoll als Anhang, Tabelle III.

Ich hatte mit dem gleichen Blut eine ähnliche Versuchsreihe durchgeführt, die die gleichen Werte ergab. Bei diesem Versuch ist wenig CO_2 mit entbunden worden. Die Meniskenverschiebung beim Hämolysieren, wozu hier nur Wasser benutzt wurde, zeigt die Abhängigkeit derselben von der Temperatur.

Bei dem *gleichen* Blut konnte auch noch eine Versuchsreihe mit Barcroftammoniak und doppelter Konzentration desselben durchgeführt werden:

	Versuchstemperatur °C	Meniskenverschiebung b. Hämolysieren		O_2 reduziert in 100 ccm Blut ccm	Spektroskopbefund
		Zunahme ccm	Abnahme ccm		
Unbenetzt, dest. Wasser als Lysin	31—32	3	—	23,2	Neutrales Met-Hb.
Benetzt, Wasser + NaOH . .	31—32	1,9	—	22,52	Alkalisches Met-Hb.
Barcroft	31—32	0,8	—	20,54	Neutrales Met-Hb.
Doppelt *Barcroft* .	31—32	—	0,1	18,1	Alkalisches Met-Hb.

Dieser Versuch ist, wenn man noch die spektroskopischen Ergebnisse mit heranzieht, eindeutig verlaufen.

Die Menge Sauerstoff aus dem benetzten Birnchen mit Zugabe von NaOH zum Lösungsmittel, so daß alkalisches Met.-Hb. entstand, ist nur um 3 Proz. geringer als die Menge im unbenetzten Birnchen.

Bei Barcroftammoniak macht der Unterschied bereits 11 Proz. aus (s. Anhang, Tabelle IV). Hier trat der oft beobachtete Fall auf, daß das Ammoniak nicht ausreichte, alkalisches Met.-Hb. zu bilden. Wurde eine Ammoniaklösung genommen, die alkalisches Met.-Hb. ergab, so betrug die Differenz 22 Proz.

Um über den O_2, der bei Ammoniaklösung zu wenig gefunden wurde, einen gewissen Aufschluß zu erhalten, wurden folgende Versuche angestellt: Gibt man zu alkalischen Met.-Hb.-Lösungen geringe Mengen Säure hinzu, so entsteht neutrales Met.-Hb.; es sollte geprüft werden, ob bei diesem Vorgang der fehlende Sauerstoff ausgetrieben wird. Benutzt wurden Lösungen von Citronensäure. Die ausgetriebene CO_2 wurde auf die schon geschilderte Weise absorbiert. Es ergab sich, daß Sauerstoff nicht mit ausgetrieben wurde.

Zusammenfassung.

1. Will man mit dem *Barcroft*schen Differentialapparat nach der gegebenen Vorschrift mit Ammoniak als Lösungsmittel den Sauerstoff im *frischen* Blut bestimmen, so ist der gefundene Wert zu *niedrig*, weil ein Teil des Blutsauerstoffs mit dem Ammoniak eine chemische Verbindung, deren genauere Konstitution für weitere Untersuchungen vorbehalten bleibt, eingeht. Dies wird auch aus der Volumenabnahme, die beim Hämolysieren beobachtet wird, geschlossen, die nur so erklärt werden kann, daß Sauerstoff dem Luftraum des Birnchens entzogen wird.

2. Ein Fehler, der im Gegensatz zu 1. im *steigenden* Sinne wirkt, kommt dadurch zustande, daß die von *Barcroft* angegebene Ammoniaklösung sehr häufig die Blutmischung gar nicht *alkalisch* macht, wodurch mit dem Sauerstoff zugleich CO_2 mit herausgetrieben wird.

3. Es ist fraglich geworden, ob der Barcroftapparat überhaupt zu genauen O_2-Bestimmungen für gewisse physiologische Fragestellungen herangezogen werden darf. Es wird eine genaue Analyse des ausgetriebenen Gases zur Kontrolle sich nicht umgehen lassen.

Zum Schluß sage ich Herrn Dr. *W. Klein* für die gütige Anleitung bei der Ausführung dieser Arbeit herzlichen Dank.

Anhang.

Tabelle III.

Einfluß des Ammoniaks als Lysin auf den Sauerstoffgehalt.

Hämolyse	Absorptionsvorrichtung	Temperatur	Meniskenverschiebung b. Hämolysieren		Meniskenverschiebung durch O_2	O_2	O_2 reduziert auf 0° und 760 mm	Spektroskopbefund
			Zunahme	Abnahme				
		°C	cm	cm	cm	ccm	ccm	
Versuch 27. III. Bockblut. Das Tier erhielt im Futter 30 g Harnstoff.								
Wasser . . .	mit	23	1,1	—	7,15	18,59	17,21	
Ammoniak 4 : 1000 . .	—	23	—	0,7	4,30	11,18	10,35	Alkal. Met.-Hb. mit schwachem Strich im Rot
Wasser . . .	ohne	23	1,0	—	7,25	21,16	18,67	
Ammoniak 4 : 1000 . .	—	23	—	0,75	4,65	13,02	12,05	ebenso
Versuch 28. III. Hammelblut. Das Tier erhielt im Futter 30 g Harnstoff. Frißt seit einem Tag nicht mehr.								
Wasser . . .	mit	23	2,85	—	8,05	20,93	19,38	
Ammoniak 4 : 1000 . .	—	23	—	0,2	6,70	17,42	16,13	Alkal. Met.-Hb. mit schwachem Strich im Rot
Wasser . . .	ohne	23	2,70	—	7,8	21,84	20,22	
Ammoniak 4 : 1000 . .	—	23	—	0,1	6,5	18,2	16,85	ebenso

Tabelle IV.

Einfluß wechselnder Temperatur.

Versuch 7. III. Bullenblut bei -2^0 gekühlt aufbewahrt. 1 Tag alt. Blut und Lösungsmittel stehen bei Zimmertemperatur 16^0.

Hämolyse	Absorptionsvorrichtung	Temperatur	Meniskenverschiebung b. Hämolysieren		Meniskenverschiebung durch O_2	O_2	O_2 reduziert auf 0^0 und 760 mm	Spektroskopbefund
			Zunahme	Abnahme				
		°C	cm	cm	cm	ccm	ccm	
Wasser	ohne	5	1,0	—	8,95 bleibt stehen	23,27	22,81	
Wasser	mit	5	0,4	—	8,75 bleibt stehen	22,75	22,3	
Wasser	ohne	27	2,75	—	9,85 bleibt stehen	25,66	23,33	
Wasser	mit	27	2,15	—	10,1 geht zurück auf 9,75	25,35	23,05	
Wasser	ohne	38	4,3	—	9,7	25,22	22,12	
Wasser	mit	38	4,1 geht zurück auf 3,3*)	—	10,6 geht zurück auf 9,6	24,96	21,9	

*) Beim Schütteln steigt die Differenz wieder auf 4,1, um wieder auf 3,3 zu fallen, bei nochmaligem Schütteln wiederholt sich der Vorgang.

Versuch 6. III. Das gleiche Blut wie am 7. III. Frisches Schlachtblut *mit* Absorptionsvorrichtung in den Birnchen.

Hämolyse	Absorptionsvorrichtung	Temperatur	Zunahme	Abnahme	Meniskenverschiebung durch O_2	O_2	O_2 reduziert	Spektroskopbefund
Wasser + Natronlauge	mit	31—32	1,9	—	9,7 bleibt stehen	25,22	22,52	Alkal. Met.-Hb.
Ammoniak 4 : 1000	mit	31—32	0,8	—	8,85	23,01	20,54	Neutral. Met.-Hb.
Dest. Wasser	mit	31—32	4,3 geht zurück auf 3,0	—	10,6 geht zurück auf 10,0	26,0	23,2	
Ammoniak 8 : 1000	mit	31—32	—	0,1	8,15	21,18	18,1	Alkal. Met.-Hb.

Hier ist beim Versuch mit Natronlauge in der Blutlösung der Sauerstoffwert nur um 3 Proz. geringer als bei destilliertem Wasser, während bei Barcroftammoniak, wobei neutrales Met.-Hb. entstand, der Unterschied **11 Proz.,** und bei der doppeltstarken Ammoniaklösung 22 Proz.

Vergleichende Harnstoffbestimmungen im menschlichen und tierischen Harn.

Von

K. Kikuchi (Tokio, Japan).

(Aus dem tierphysiologischen Institut der Landwirtschaftlichen Hochschule Berlin.)

(Eingegangen am 25. Januar 1925.)

Zur Bestimmung des Harnstoffs im Harn sind sehr viele Methoden vorgeschlagen worden, die alle des öfteren modifiziert worden sind, ohne daß mit ihnen die Harnstoffmenge mit völliger Sicherheit bestimmt werden konnte. Die Methoden beruhen einmal auf der direkten gravimetrischen Bestimmung des Harnstoffs durch Überführung in schwerlösliche Verbindungen. Als geeignetste Verbindung wurde der oxalsaure Harnstoff gewählt. *Brücke* (1) wies zuerst darauf hin, daß die Schwerlöslichkeit des Harnstoffoxalats in Amylalkohol sich zur quantitativen Bestimmung verwerten ließe, jedoch erst *Lippich* (2) zeigte, daß diese Schwerlöslichkeit sich zur quantitativen Methode verwenden ließ. In neuerer Zeit hat *Moor* (3) über die quantitative Darstellung des Harnstoffs aus menschlichem Harn berichtet, auch unter Anlehnung an die Schwerlöslichkeit des Harnstoffoxalats. *Fosse* (4) beschreibt eine neue Verbindung des Harnstoffs mit Xanthydrol, die sich ebenfalls durch hohe Unlöslichkeit auszeichnet. Neben diesen direkten Bestimmungsmethoden kennt man auch indirekte Methoden zur Bestimmung des Harnstoffs. Dieselben beruhen darauf, daß man bestrebt ist, eine Zersetzung des Harnstoffs herbeizuführen, um dann die Menge von einem der Zersetzungsprodukte zu bestimmen. Nach der Art der Zersetzung kann man diese Bestimmungsmethoden in zwei Gruppen zusammenfassen. Bei der einen wird der Harnstoff in Ammoniak und Kohlensäure gespalten und das gebildete Ammoniak bestimmt, bei der zweiten Gruppe wird die Zersetzung des Harnstoffs unter Bildung von Stickstoff, Kohlendioxyd und Wasser durchgeführt. Aus jeder dieser drei Gruppen habe ich die eine oder andere ausgewählt und besonders die Verwertbarkeit derselben zur Prüfung auch tierischer Harne im Auge gehabt. Von den direkten Harnstoffbestimmungs-

methoden wählte ich das Verfahren von *Fosse* (l. c.) in der Ausführungsform von *Frenkel* (5). Dasselbe gründet sich auf der von *Fosse* beobachteten Eigenschaft des Harnstoffs, sich in essigsaurer Lösung mit Xanthydrol zu dem fast unlöslichen Dixanthylharnstoff zu kondensieren. Eine weitere Annehmlichkeit dieses Verfahrens besteht darin, daß die Ausführung der Bestimmung durch Anwesenheit von Ammoniak, Methylamin, Guanidin, Kreatin, Arginin, Asparaginsäure, Tyrosin, Harnsäure, Xanthin, Gelatine, Pepton, Eialbuminoide, Mannit, Glucose, Lävulose, Dextrin, Saccharose, Citronensäure, Wein- oder Milchsäure nicht gestört wird. Die Reaktion verläuft im Sinne nachstehender Gleichung:

$$2\,O\!\begin{array}{l}\diagup C_6H_4 \diagdown\\ \diagdown C_6H_4 \diagup\end{array}\!CH-OH + CO\!\begin{array}{l}\diagup NH_2\\ \diagdown NH_2\end{array}$$

Xanthydrol Harnstoff

$$= 2\,H_2O + O\!\begin{array}{l}\diagup C_6H_4 \diagdown\\ \diagdown C_6H_4 \diagup\end{array}\!CH-NH-CO-NH-CH\!\begin{array}{l}\diagup C_6H_4 \diagdown\\ \diagdown C_6H_4 \diagup\end{array}\!O$$

Dixanthylharnstoff

Die Ausführung des Verfahrens gestaltet sich wie folgt: 10 ccm Harn, verdünnt auf 100 ccm, werden mit 35 ccm Eisessig und mit 5 ccm einer 10 proz. methylalkoholischen Xanthydrollösung, und zwar mit fünf gleichen Teilen, stets je 1 ccm, in Zwischenräumen von 10 Minuten versetzt. Nach Ablauf einer Stunde, vom letzten Xanthydrolzusatz, werden die ausgeschiedenen Kristalle an der Wasserstrahlpumpe abgesaugt, mit 20 ccm Alkohol gewaschen, bei 100 bis 105° getrocknet und gewogen. *Fosse* empfiehlt zum Absaugen einen silbernen Trichter und eine konkave, gebogene silberne Siebplatte. Nach meinen Erfahrungen halte ich die Benutzung dieser Silberapparatur für unnötig. Ich habe mit Vorteil die von den Jenaer Glaswerken *Schott und Genossen* neuerdings hergestellten Goochtiegel aus Jenaer Glas mit eingeschmolzener Siebplatte aus Glas benutzt [1. G. (3/< 7)].

Zunächst prüfte ich das Verfahren an einer 0,50 proz. reinen Harnstofflösung.

Je 10 ccm derselben wurden in essigsaurer Lösung mit methylalkoholischer Xanthydrollösung, wie oben ausgeführt, gefällt. Die Menge des erhaltenen Dixanthylharnstoffs betrug 0,3497 und 0,3489 g. Da das Verhältnis Dixanthylharnstoff : Harnstoff wie 420 : 60 ist, ergibt das Gewicht des erhaltenen Niederschlags durch 7 dividiert die Menge des vorhandenen Harnstoffs: $\frac{0,3497}{7} = 0,04995$ und $\frac{0,3489}{7} = 0,04984$ g Harnstoff in 10 ccm, entsprechend einem Gehalt von 0,4995 bzw. 0,4984 g Harnstoff in 100 ccm Lösung.

An vier Proben von normalem menschlichen Harn habe ich die Bestimmungen wiederholt. Für je 10 ccm Harn wurden nachstehende Dixanthylharnstoffmengen gefunden:

Harn 1	Harn 2	Harn 3	Harn 4
1,2312 g	1,2454 g	1,2268 g	1,2268 g

entsprechend einem Harnstoffgehalt von

1,759 Proz.	1,779 Proz.	1,752 Proz.	1,752 Proz.

Das Xanthydrol läßt sich nach *Frenkel* (l. c.) in nachstehender Weise zurückgewinnen. Die Filtrate der Dixanthylharnstoffniederschläge werden auf dem Wasserbade von Alkohol und Methylalkohol befreit, mit Soda neutralisiert und mit Chloroform ausgeschüttelt. Die Chloroformauszüge werden verdampft und der Rückstand in der zehnfachen Menge Methylalkohol gelöst und die Lösung filtriert. Dieselbe kann wieder als Reagens benutzt werden. Es empfiehlt sich, nicht zuviel Xanthydrollösung vorrätig zu halten, da nach etwa einer Woche Aufbewahrungsdauer eine Oxydation zu Xanthon stattfindet. Die Ausführung der Xanthydrolmethode gestaltet sich im Vergleich mit den anderen Methoden als sehr einfach und liefert äußerst genaue Resultate. Es wäre wünschenswert, wenn dieselbe eine recht ausgiebige Verwendung finden würde. Nach Angaben der französischen Forscher eignet sich dieselbe auch zur Bestimmung von Harnstoff im Blute und anderen Körperflüssigkeiten.

Von den indirekten Methoden benutzte ich das Verfahren von *Folin* (6), von *Henriques* und *Gamelthoft* (7) und das Verfahren von *Marschall*, modifiziert von *van Slyke* und *Cullen* (8). Während die beiden ersten dieser Methoden die Hydrolyse des Harnstoffs entweder durch Kochen mit Magnesiumchlorid und Salzsäure oder durch Erhitzen der schwefelsauren Harnstofflösung im Autoklaven unter Druck durchführen, beruht letzteres auf der Spaltung des Harnstoffs durch die Urease der Sojabohne. Zur Bestimmung des gebildeten Ammoniaks benutzte ich immer das Verfahren von *Folin* (9), welches darauf beruht, das in Freiheit gesetzte Ammoniak durch einen Luftstrom in die vorgelegte titrierte Säure abzuführen. Die mit diesem Verfahren bei Menschenharn erhaltenen Harnstoffwerte sind aus nachstehender Tabelle ersichtlich.

Menschenharn.

Bezeichnung der Methode	Harn 1 Proz.	Harn 2 Proz.	Harn 3 Proz.	Harn 4 Proz.
Fosse	1,759	1,779	1,752	1,7526
Folin	1,7355	1,725	1,760	1,7965
Henriques und *Gamelthoft*	1,653	1,590	1,642	1,694
Ureaseverfahren	1,497	1,461	1,398	1,426

Die niedrigen Werte beim Ureaseverfahren ließen sich dadurch erklären, daß bei der Vermahlung der Sojabohnen die Mühle sich warm lief, wodurch das ganze Mahlgut sich stark erhitzte und eine erhebliche Schädigung der Ureasewirkung eintrat.

Anschließend an die Untersuchungen mit menschlichem Harn bestimmte ich unter Benutzung der gleichen Methoden den Harnstoff-

gehalt im Schweine-, Hammel-, Pferde- und Hundeharn. Die erhaltenen Werte sind aus nachstehenden Tabellen ersichtlich.

Schweineharn.

Bezeichnung der Methode	Harn 1 Proz.	Harn 2 Proz.	Harn 3 Proz.	Harn 4 Proz.	Harn 5 Proz.
Fosse	0,548	0,600	0,548	0,490	0,448
Folin	0,544	0,590	0,540	0,480	0,450
Henriques und *Gamelthoft*	0,528	0,560	0,528	0,466	0,438
Ureaseverfahren	0,550	0,595	0,550	0,480	0,440

Hammelharn.

Bezeichnung der Methode	Harn 1 Proz.	Harn 2 Proz.	Harn 3 Proz.	Harn 4 Proz.	Harn 5 Proz.	Harn 6 Proz.	Harn 7 Proz.	Harn 8 Proz.
Fosse	1,76	1,74	1,75	1,72	1,74	1,62	1,50	1,50
Folin	1,73	1,782	1,717	1,717	1,733	1,59	1,43	1,41
Henriques und *Gamelthoft*	1,65	1,73	1,70	1,72	—	1,50	1,40	1,38
Ureaseverfahren	1,70	1,78	1,70	1,72	1,73	1,65	1,40	—

Pferdeharn.

Bezeichnung der Methode	Harn 1 Proz.	Harn 2 Proz.	Harn 3 Proz.	Harn 4 Proz.	Harn 5 Proz.
Fosse	2,046	2,052	2,0351	2,0503	2,034
Folin	1,90	1,99	1,912	1,924	1,96
Henriques und *Gamelthoft*	1,86	1,90	1,802	1,860	1,90
Ureaseverfahren	1,94	2,00	1,86	1,85	1,90

Hundeharn.

Bezeichnung der Methode	Harn 1 Proz.	Harn 2 Proz.	Harn 3 Proz.	Harn 4 Proz.	Harn 5 Proz.	Harn 6 Proz.	Harn 7 Proz.	Harn 8 Proz.
Folin	2,50	2,55	0,792	0,810	0,81	0,786	0,816	0,75
Fosse	2,454	2,60	0,810	0,80	0,85	0,78	0,84	0,775
Henriques und *Gamelthoft*	2,40	2,48	0,72	0,79	0,80	0,74	0,79	0,70
Ureaseverfahren	2,45	2,50	0,84	0,80	0,78	0,70	0,79	0,80

Zum Schluß möchte ich noch kurz einige Versuche erwähnen, die ich mit dem Amidometer nach *Citron* (10) erhielt. Das Prinzip, welches diesem Apparat zugrunde liegt, ist, die Zersetzung des Harnstoffs durch Natriumhypobromit unter Bildung von Stickstoff, Wasser und Kohlendioxyd. Bei Ausführung der Bestimmungen hielt ich mich genau an die Vorschriften *Citrons* (l. c.).

Der zu obigen Untersuchungen dienende normale Menschenharn lieferte folgende Harnstoffwerte:

Harn 1. . . . . 1,825 Proz.
„ 2. . . . . 1,850 „
„ 3. . . . . 1,850 „
„ 4. . . . . 1,825 „

In bezug auf das Arbeiten mit diesem Apparat kann ich mich der Kritik von *Brahm* (11) nur anschließen, der neben der Ablehnung der gasometrischen Methodik nach dem Prinzip der Hypobromitreaktion im allgemeinen, besonders die wenig befriedigende Apparatur bemängelt. Am unangenehmsten machte sich bei meinem Arbeiten mit diesem Apparat die Ausdehnung der entstehenden Gase durch die Temperatursteigerung bemerkbar, die sich beim Gebrauch dieses Apparats immer einstellen muß.

Zusammenfassung.

Zur Bestimmung von Harnstoff eignet sich das Xantholverfahren infolge der einfachen Ausführung und der genauen damit zu erzielenden Resultate sowohl für menschlichen wie auch für tierischen Harn. Gleichwertig mit dieser gravimetrischen Methode sind die Verfahren von *Folin* und das Ureaseverfahren, während das Verfahren von *Henriques* und *Gamelthoft* sowohl bei menschlichen wie tierischen Harnen niedrigere Werte lieferte. Die gasometrischen Methoden, die auf der Hypobromitreaktion basieren, sind als wissenschaftliche Methoden abzulehnen.

Literatur.

1) *Brücke*, Monatsh. f. Chem. **8**, 195. -- 2) *F. Lippich*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **48**, 160, 1906. — 3) *Wm. O. Moor*, diese Zeitschr. **148**, 423, 1923. — 4) *R. Fosse*, C. r. hebdom. des seances de l'acad. des sciences **157**, 948, 1913; **158**, 1076, 1432, 1588, 1914; Ann. de l'inst. Pasteur **30**, 525, 1916. — 5) *Frenkel*, Ann. de Chim. analyt. appl. (2) **2**, 234, 1920. — 6) *O. Folin*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **32**, 504, 1901; **36**, 333, 1902. — 7) *V. Henriques* und *S. A. Gamelthoft*, Skandin. Arch. f. Physiol. **25**, 153, 1911. — 8) *D. van Slyke* und *Gl. C. Cullen*, Journ. of biol. Chem. **19**, 211, 1914; Deutsch. med. Wochenschr. **40**, 1219, 1914. — 9) *O. Folin*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **37**, 161, 1902. — 10) *Citron*, Deutsch. med. Wochenschr. **45**, 542, 1919. — 11) *C. Brahm*, ebendaselbst **45**, 803, 1919.

Die Bestimmung der Phosphorsäure bei Stoffwechselversuchen.

Von

Constanze Schmitt-Krahmer.

(Aus dem tierphysiologischen Institut der Landwirtschaftlichen Hochschule Berlin.)

(Eingegangen am 25. Januar 1925.)

Unter den vielen Methoden, die für die quantitative Bestimmung der Phosphorsäure in den letzten Jahrzehnten veröffentlicht worden sind, hat die „*Neumann*sche" mit vorausgehender Säuregemischveraschung[1]) eine große Anzahl von Anhängern gefunden. Der Vorgang ist, kurz beschrieben, folgender. Die organische Substanz wird durch langsames Hinzufließenlassen eines Gemisches von gleichen Teilen konzentrierter H_2SO_4 und konzentrierter HNO_3 bei vorsichtigem Erhitzen vollkommen verascht. Dann wird mit Wasser verdünnt und noch kurze Zeit erhitzt. Nach dem Abkühlen fügt man Ammonnitratlösung hinzu, erhitzt auf 70 bis 80° und fällt die Phosphorsäure mit Ammoniummolybdat. Wenn der Niederschlag filtriert und gewaschen ist, wird er in n/2 NaOH gelöst, gekocht, bis kein Ammoniak mehr entweicht, und nach dem Erkalten wird der Überschuß an Alkali durch n/2 Säure zurücktitriert. Aus den verbrauchten Kukibzentimetern n/2 NaOH findet man dann durch Multiplikation mit dem Faktor 0,553 die Menge des in der Aschelösung vorhandenen Phosphors.

Nun hat im Laufe der Zeit diese Fällung des Ammoniumphosphormolybdats mannigfache Veränderungen erfahren. Es liegen Modifikationen derselben in so vielen Arbeiten vor, daß es mich zu weit führen würde, auf alle einzeln einzugehen. Ich verweise da zunächst auf die Veröffentlichungen von *Kleimann*[2]) und *Iversen*[3]), die beide die *Neumann*sche Methode, als auch besonders die mancherlei Änderungen, die von verschiedenen Seiten daran gemacht worden sind, erwähnen und teilweise einer Kritik unterziehen. Die Genauigkeit der Methode

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **37**, 129, 1902; **43**, 35, 1904.
[2]) Diese Zeitschr. **99**, 46, 1919.
[3]) Ebendaselbst **104**, 15, 22, 1920.

wird anerkannt. Voraussetzung dabei ist, daß man je nach der ungefähren Menge der zu fällenden Phosphorsäure die Versuchsbedingungen, als da sind Flüssigkeitsmenge, Säurezusatz und Gehalt an Ammoniumnitrat und -molybdat, ändert; auch ergibt ein zu großer Überschuß an n/2 NaOH zu hohe und, falls nach *Neumann-Gregersen* gearbeitet wird, ein größerer Überschuß von n/2 H_2SO_4 zu niedrige Werte. Einwendungen gegen den *Neumann*schen theoretischen Umrechnungsfaktor 0,553 von *Heubner* einerseits und von *Jodidi* und *Kellog* andererseits, die statt dessen den empirischen Faktor 0,57 vorschlagen, werden von *Kleinmann* dahin aufgeklärt, daß zum Auswaschen des gefällten Ammoniumphosphormolybdats an Stelle des ursprünglich empfohlenen eiskalten Waschwassers durch Eis gekühlter 50proz. Alkohol zweckmäßig sei. In allen eben genannten Arbeiten wird auch auf die Fehlerquellen hingewiesen, die in dem Mittitrieren der Filter und in dem Nichtvertreiben der Kohlensäure vor der Titration liegen. *H. v. Euler* und *O. Svanberg*[1]) haben gefunden, daß es bei dieser Arbeitsmethode nicht zweckmäßig ist, alle Analysen, die sich auf ganz verschiedene Phosphorsäuremengen beziehen, mit dem gleichen Faktor zu berechnen.

Durch diese vielen Modifikationen wird das Arbeiten nach der *Neumann*schen Methode erschwert und umständlich, und es ist gar nicht zu verstehen, daß eine andere Arbeitsweise, nämlich die von *N. v. Lorenz*, sich noch so wenig Eingang verschafft hat. *Lorenz* nennt sie „Äthertrocknung des Ammoniumphosphormolybdats“[2]). Sie ist von *Lieb*[3]) in der Mikroanalyse[4]) verwendet worden, aber als Makrobestimmung begegnet man ihr nur selten. Selbst die neuen Auflagen der analytischen Werke, wie *Späth*, „Der Harn“ und *Hoppe-Seyler-Thierfelder*, „Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse“, erwähnen sie nicht. Dabei läßt sie an Einfachheit der Ausführung und Genauigkeit der Ergebnisse nichts zu wünschen übrig.

Die Reagenzien, wie *Lorenz* sie selbst angibt, sind folgende:

1. Sulfatmolybdänreagens. Man übergießt in einem reichlich 2 Liter fassenden Glaszylinder 100 g reines, trockenes Ammoniumsulfat mit 1 Liter Salpetersäure vom spezifischen Gewicht 1,36 bei 15° C und rührt um, bis das Sulfat gelöst ist. (Es genügt vollkommen, wenn die Salpetersäure, in einem kalten Zimmer gemessen, das spezifische Gewicht 1,36 bis 1,37 oder in einem warmen Zimmer 1,35 bis 1,36 zeigt.) Ferner löst man 300 g reinstes, trockenes Ammoniummolybdat in einem Literkolben mit heißem

---

[1]) Zeitschr. f. physiol Chem. **112**, 282, 1921.

[2]) Landwirtsch. Versuchsstationen **55**, 186, 1901.

[3]) Abderhaldens Handb. d. biochem. Arbeitsmeth. **9**, 287, 1919.

[4]) *Pregl*, Die quantitative organische Mikroanalyse, S. 139. Berlin, Springer, 1917.

Wasser, füllt bis gegen die Marke auf, mischt, kühlt auf etwa 20° C, füllt zur Marke und gießt die Lösung in dünnem Strahle unter Umrühren zur sulfathaltigen Salpetersäure. Man läßt nun mindestens 48 Stunden bei Zimmertemperatur stehen, filtriert dann durch ein säurefestes, dichtes Filter und verwahrt das fertige Reagens wohlverschlossen im Kühlen und Dunkeln.

2. Salpetersäure vom spezifischen Gewicht 1,20 bei 15° C (1,19 bis 1,21).

3. Schwefelsäurehaltige Salpetersäure. Man gießt 30 ccm Schwefelsäure vom spezifischen Gewicht 1,84 zu 1 Liter Salpetersäure vom spezifischen Gewicht 1,20 bei 15° C (1,19 bis 1,21) und mischt.

4. 2proz. wässerige Lösung von reinem Ammoniumnitrat. Wenn die Lösung nicht schon schwach sauer reagiert, ist sie mit wenigen Tropfen reiner Salpetersäure pro Liter anzusäuern.

5. Alkohol von 90 bis 95 Vol.-Proz. Derselbe soll beim Verdunsten keinen Rückstand hinterlassen und nicht alkalisch reagieren.

6. Äther. Derselbe soll beim Verdunsten keinen Rückstand hinterlassen, nicht alkalisch reagieren, alkoholfrei und nicht zu wasserhaltig sein; es sollen vielmehr 150 ccm Äther imstande sein, 1 ccm Wasser bei 15° C noch vollständig und klar zu lösen.

Die Ausführung der Bestimmung selbst kann erfolgen, wenn 50 ccm Lösung mit nicht mehr als 50 mg P_2O_5 zur Fällung gelangen und darin 10 bis 20 ccm Salpetersäure und etwa 1 ccm Schwefelsäure vorhanden sind.

Diese Lösung wird in einem 200-ccm-Becherglas auf einem Drahtnetz erhitzt, ohne Benutzung eines Glasstabes, bis die ersten Blasen springen. Dann nimmt man sie vom Feuer, schwenkt, um die Überhitzung der Glaswände aufzuheben, vorsichtig um, gießt sofort in die Mitte der Lösung 50 ccm des Sulfatmolybdänreagens und läßt sie mit einem Uhrglas bedeckt so lange stehen, bis sich der Hauptniederschlag zu Boden gesetzt hat, aber höchstens 5 Minuten. Dann rührt man mit einem Glasstab ½ Minute lang kräftig um. Dabei setzt sich ein Teil des Niederschlags am Glasstab fest. Jedoch konnte ich ihn durch wenige Tropfen beinahe kochenden Wassers leicht abspülen. Man läßt nun 2 bis 18 Stunden stehen, dann wird durch einen Goochtiegel filtriert.

Lorenz benutzt für die Filtration einen Goochtiegel aus Platin, auf dessen Boden er ein rundes Scheibchen aus glattem, lufttrockenem, nicht zu dichtem, aber asche- und fettfreiem Filtrierpapier bringt. Die Wand des Tiegels darf davon nicht berührt werden, es muß nur die Sieblöcher genügend bedecken. Ich benutzte zu meinen Arbeiten Platingoochtiegel mit Platinschwammfilter, sogenannte Neubauertiegel, die den Vorteil haben, daß sie stets gebrauchsfertig sind. Werden sie nach jedesmaliger Benutzung sorgfältig gereinigt, indem man nach dem Ausspülen mit Wasser erst verdünntes Ammoniak, dann destilliertes Wasser durchsaugt, so ist eine Wägung vor der Filtration nur hin und wieder zur Kontrolle nötig. Den gleichen Dienst leisten Tiegel derselben Art aus Goldplatin mit Platinschwammfilter.

Ich untersuchte auch die Filtertiegel mit Glasfilterplatten der Firma Schott in Jena, da diese, ihres billigen Preises wegen, etwa 1,80 Mk. das Stück, von jedem Laboratorium leicht angeschafft werden

können. Die Glasfilterplatten sind verschieden dicht, so daß nicht alle für meinen Zweck brauchbar waren.

Ich arbeitete mit Tiegel 1 G 3 | < 7 und 1 C 8 | 5—7. Die Zahl 1 und der Buchstabe geben Form und Glasart des Tiegels an, die Zahlen 3 bzw. 8 die Dicke der Filterschicht in Millimetern und die Zahlen hinter dem Strich die Korngröße, wie sie eingegrenzt wird durch die Maschenweite der benutzten Siebe. Beide Tiegelarten lassen sich für das *Lorenz*sche Verfahren gebrauchen, wenn allerdings auch für Korngröße 5—7 Vorsicht am Platze ist. Ich habe Tiegel dieser Art gehabt, die tadellos waren in ihrer Verwendung, aber auch solche, bei denen plötzlich der Niederschlag sogar noch in feuchtem Zustande glatt hindurchgerissen wurde. Dagegen ist Tiegel 3 | < 7 sehr zu empfehlen. Allerdings geht die Filtration nicht ganz so schnell vonstatten, wie in dem vorher genannten und dem Platin- bzw. Goldplatintiegel.

Ich machte auch Versuche mit dem Filterscheibchen. Ich benutzte einfache Porzellangoochtiegel und legte auf den Boden ein rundes Blatt aus quantitativem Filtrierpapier. Ich trocknete das Filter nicht nach *Lorenz*, sondern es schien mir einfacher und bequemer, ein paar Tropfen Alkohol und ebenfalls Äther hindurchzusaugen, nachdem ich das Scheibchen in den Tiegel gebracht hatte. Nachdem der Tiegel 15 bis 20 Minuten im Vakuumexsikkator bei 100 bis 200 mm Druck gestanden hatte, wurde er gewogen. Ein weiteres Trocknen war nicht nötig.

Aber auch Asbest läßt sich zum Filtrieren verwenden. Die Gefahr des Durchlaufens vom Niederschlag besteht nicht, wenn die Schicht genügend dick ist. Man füllt den Tiegel in althergebrachter Weise unter der Siebplatte mit wenig, über der Siebplatte mit so viel Asbest, daß nach dem Absaugen des Wassers der Asbest nicht mehr in die Sieblöcher hineingezogen erscheint. Gibt man bei abgestellter Pumpe etwas Alkohol darauf, läßt langsam durchziehen, dann absaugen, wiederholt dies noch einmal mit Alkohol und zweimal mit Äther, so sind auch die auf diese Art hergestellten Tiegel, nachdem sie ½ Stunde im Vakuumexsikkator unter den oben gegebenen Bedingungen gestanden haben, im allgemeinen trocken. Es ist jedoch nötig, sich bei dieser Herstellung der Filterschicht so lange durch eine zweite Wägung von der Konstanz zu überzeugen, bis man durch genügende Übung nie mehr Asbest aufgießt als unbedingt erforderlich ist.

Was die Gebrauchsfertigkeit der verschiedenen Tiegelarten anbelangt, so steht der Platintiegel an erster Stelle. Wie ich schon früher erwähnte und auch aus der Tabelle zu ersehen ist, liegen die Gewichtsveränderungen innerhalb der Fehlergrenze. Zwischen je zwei aufeinanderfolgenden Zahlen liegt eine Filtration, eine Reinigung mit verdünntem Ammoniak und Wasser und eine Trocknung mit Alkohol und

Äther. Die anderen Tiegel nehmen mehr oder minder an Gewicht ab, so daß es doch sicherer ist, sie vor jeder Bestimmung zu wägen. Die größte Differenz beträgt 1,8 mg. Bei der Umrechnung des Ammoniumphosphormolybdats auf P_2O_5 wird durch etwa 30 dividiert, und so könnte immerhin eine Ungenauigkeit von 0,06 mg in die Bestimmung hineinkommen, die ja allerdings nur bei sehr kleinen P_2O_5-Mengen sich fehlerhaft bemerkbar machen würde. Diese größte Differenz von 1,8 mg fand sich bei einem Filtertiegel von Schott. Ich habe nur ganz neue Tiegel dieser Art im Versuch gehabt und auch diese nur kurze Zeit. Daher entzieht es sich meiner Kenntnis, ob sich vielleicht bei längerem Gebrauch eine Gewichtskonstanz einstellen würde. Tiegel mit Asbestfilter mehrmals zu benutzen, halte ich nicht für zweckmäßig. Die Gewichtsunterschiede betragen stets 1,4 bis 1,6 mg, die wohl darauf zurückzuführen sind, daß bei dem gründlichen Auswaschen kleine Asbestfäden mit hindurchgerissen werden. Die ordnungsmäßig hergestellte Filtrierschicht kann dann allmählich leicht zu dünn werden, so daß der Niederschlag nicht mehr vollkommen zurückgehalten würde.

Platintiegel	Filtertiegel mit Glasfilterplatten			Porzellangoochtiegel	
	3 < 7	3 | < 7	8 | 5 — 7	mit Filterpapier	mit Asbest
g	g	g	g	g	g
24,6157	25,1142	21,5289	28,5562	13,4949	16,4285
24,6156	25,1138	21,5272	28,5559	13,4949	16,4271
24,6158	25,1120	21,5268	28,5558	13,4948	16,4255
24,6156	25,1113	—	28,5550	13,4946	16,4239
24,6156	25,1111	—	—	13,4939	16,4225

Wenn man den ganzen Niederschlag in den Tiegel gebracht hat, indem man das Becherglas mehrmals mit der 2proz. Ammoniumnitratlösung nachspülte, trocknet man mit Alkohol und Äther. *Lorenz* sagt, man solle den Tiegel einmal voll und zweimal halbvoll mit Alkohol und ebenfalls mit Äther füllen. Ich bin mit weniger ausgekommen. Wenn man die Pumpe nur ganz schwach ziehen läßt und den Alkohol und nachher ebenfalls den Äther so vorsichtig zugibt, daß er von allen Seiten nacheinander an der Wandung herunterläuft, so genügt es, wenn die Alkohol- bzw. Ätherschicht etwa 1/2 cm über dem Niederschlag steht und man dann fast ganz absaugen läßt. Wiederholt man das mehrmals, so braucht man höchstens einen Tiegel voll Alkohol bzw. Äther. In dem Trocknen mit Äther liegt bei nicht genügender Übung die einzige Gefahr für das Mißlingen des Versuchs. Denn wenn die Pumpe nicht in demselben Augenblick abgedreht wird, in dem die letzte Spur von Äther verschwunden ist, so ist die Gefahr groß, daß Teilchen des außerordentlich feinkörnigen, rasch trocknenden Niederschlags durch das Filter gerissen werden. Diese Gefahr ist am geringsten

bei dem oben genannten Tiegel von Schott, 3 | < 7. Versuche in dieser Hinsicht gaben ein außerordentlich zufriedenstellendes Ergebnis.

Man kann an Stelle von Alkohol und Äther auch Aceton zum Auswaschen nehmen. *Neubauer* und *Lücker*[1]) machen diesen Vorschlag. Sie wollen dadurch das *Lorenz*sche Verfahren billiger gestalten: das Aceton kann leichter vollkommen wiedergewonnen werden als der Alkohol und Äther.

Nachdem man den Tiegel von der Saugvorrichtung abgenommen und von außen trocken gewischt hat, bringt man ihn ½ Stunde im Vakuumexsikkator, der stets ohne Trockenmittel sein muß, unter 100 bis 200 mm Druck und wägt dann sofort. Ich mache darauf aufmerksam, daß das Öffnen des Hahnes an dem stark evakuierten Exsikkator sehr langsam und allmählich vor sich gehen muß. Wenn der Luftzustrom plötzlich zu stark wird, kann es geschehen, daß Teilchen des Niederschlags aus dem Tiegel herausgepustet werden. Ein nochmaliges Trocknen und Wägen des Niederschlags erübrigt sich. Darauf haben schon *Lorenz* und *Plücker* hingewiesen, und ich habe dasselbe gefunden. Das Gewicht des Niederschlags multipliziert mit dem Faktor 0,03295 gab die Menge P_2O_5 an.

Wenn das sofortige Wägen des Niederschlags, wie es unbedingt nötig ist, da er nach 10 bis 15 Minuten durch die Luftfeuchtigkeit anfängt, merklich schwerer zu werden, aus irgend einem Grunde nicht möglich ist, so empfehlen *Neubauer* und *Lücker*[1]), die Tiegel von dem evakuierten Raum in einen Exsikkator zu bringen, der ein Gemisch von gleichen Volumenteilen konzentrierter Schwefelsäure und Wasser enthält. Die Niederschläge sollen, beliebig lange darin aufgehoben, ihr Gewicht nicht verändern.

Lorenz hat in seiner oben zitierten Arbeit noch verschiedene nähere Angaben über seine Methode gemacht. Er hat festgestellt:

1. daß eine Variation der Rührzeit von 20 bis 300 Sekunden keinen Einfluß hat.

2. Wenn der Niederschlag etwas kürzer als 2 oder etwas länger als 18 Stunden vor der Filtration steht, so gibt das nur ganz geringe Abweichungen.

3. Vorausgesetzt, daß die zu fällende Lösung eine Temperatur von 80 bis 100° hat, sind erst dann merkliche Abweichungen von einigen Milligrammen im Gewicht des Niederschlags vorhanden, wenn die Temperatur des Sulfatmolybdänreagens weniger als 10 oder mehr als 50° beträgt.

4. Abweichungen von wenigen Kubikzentimetern in dem Volumen des fällenden Reagens haben keinen schädigenden Einfluß.

5. Die zugesetzte Menge HNO_3 kann in ziemlich weiten Grenzen schwanken.

[1]) Zeitschr. f. analyt. Chem. 51, 161, 1912.

6. Der Gehalt an H_2SO_4 (s = 1,84) in 50 ccm der zu fällenden Lösung kann unbedenklich zwischen 0,5 bis 1,5 ccm schwanken, wenn im übrigen vorschriftsmäßig gearbeitet wird. Selbst in einer gänzlich schwefelsäurefreien P_2O_5-Lösung gibt es noch ziemlich genaue Resultate. 2 bis 5 ccm H_2SO_4 in 50 ccm der zu fällenden Lösung, die nicht mehr als 50 mg P_2O_5 enthält, haben auch keinen größeren Einfluß; nur die Rührzeit muß verlängert werden.

7. Geringe Abweichungen im Gehalt des Sulfatmolybdänreagens an der vorgeschriebenen Menge $(NH_4)_2SO_4$ schaden nicht.

8. Zusätze aller Art Substanzmengen, wie z. B. SiO_2, NH_4Cl, NH_4NO_3, $NaCl$, Na_2SO_4, $NaNO_3$, KCl, KNO_3, K_2SO_4, $CaCO_3$, MgO, Al_2O_3, Fe_2O_3, $MnCO_3$ usw. haben keinen Nachteil für die Bestimmung.

In mehreren Bänden der landwirtschaftlichen Versuchsstationen[1] findet man Hinweise auf die *Lorenz*sche Methode, in denen stets die Genauigkeit der Resultate betont wird. Im Jahre 1908 wurde sie dann vom Verbande der landwirtschaftlichen Versuchsstationen im Deutschen Reiche einstimmig in die Reihe der Verbandsmethoden aufgenommen[2]).

Im folgenden Jahre hat *Plücker*[3]) die Methode der Äthertrocknung einer Nachprüfung unterzogen. Er hat dabei mehrere Punkte besonders scharf untersucht und dafür im wesentlichen dieselben Bedingungen gefunden, wie ich sie schon von *Lorenz* zitiert habe. Außerdem bejaht er die Frage, ob die Art der Trocknung der Filter und des Niederschlags einwandfrei sei. Bei der Prüfung auf die zeitliche Vollständigkeit der Ausfällung kommt er zu dem Ergebnis, daß bei Mengen unter 1 mg eine Filtration des Niederschlags erst nach 12 Stunden zweckmäßig sei.

Auch *Neubauer* und *Lücker*[4]) wie auch *Kuhn*[5]) weisen auf die große Genauigkeit und die Vortrefflichkeit der Methode hin.

Hier im tierphysiologischen Institut werden schon seit mehreren Jahren alle Phosphorsäurebestimmungen, die bei den Stoffwechselversuchen nötig sind, nach der *Lorenz*schen Arbeitsweise gemacht. Um die betreffende Substanz, sei es Futter, Kot oder Harn in die zur P_2O_5-Bestimmung nötige Form zu überführen, wird sie nach *Neumann* verascht. Ich benutze allerdings die Abänderung, die sowohl *Gregersen*[6]) wie auch *Schaumann*[7]) empfehlen und die darin besteht, daß man bei der am Anfang dieser Arbeit kurz beschriebenen Veraschung zunächst eine bestimmte Anzahl Kubikzentimeter des *Neumann*schen Säuregemisches zusetzt und dann im weiteren Verlauf nur konzentrierte Salpetersäure zutröpfeln läßt.

---

[1]) Landwirtsch. Versuchsstationen **63**, 147, 1906; **64**, 87, 1906; **66**, 203, 257, 1907; **68**, 90, 1908.

[2]) Ebendaselbst **71**, 223, 1909; Österr. Chem.-Ztg. **14**, **1**, 1911.

[3]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel **17**, 446, 1909.

[4]) Zeitschr. f. analyt. Chem. **51**, 161, 1912.

[5]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **129**, 64, 1923.

[6]) Ebendaselbst **53**, 453, 1907.

[7]) Zeitschr. f. analyt. Chem. **48**, 612, 1910; Abderhaldens Handb. d. biochem. Arbeitsmeth. **9**, 617, 1919.

Zunächst arbeitete ich so, daß ich von derselben Substanz stets nur so viel veraschte, wie für eine P_2O_5-Bestimmung nötig war, und dies mehrmals wiederholte. Nachdem mich meine Versuche aber davon überzeugt hatten, wie scharf die einzelnen Bestimmungen untereinander stimmten, veraschte ich gleich eine größere Menge. Nachdem die Veraschung beendet, auch die nötige Menge Wasser zugesetzt und erhitzt worden war, filtrierte ich die Lösung nach dem Abkühlen in einen 300 bis 500 ccm Meßkolben, wusch den Veraschungskolben und das Filter gründlich nach, bis keine Schwefelsäurereaktion mehr vorhanden war, und füllte die Lösung im Meßkolben bis zur Marke auf. Aliquote Teile davon dienten dann zur Phosphorsäurebestimmung.

Da ich am Anfang der Veraschung 15 bis 20 ccm Säuregemisch zusetzte, später auf 300 bis 500 ccm verdünnte und für eine Bestimmung davon den 10. bis 15. Teil nahm, so waren darin nie mehr als höchstens 1 ccm H_2SO_4 vorhanden. Die nötige Menge HNO_3 setzte ich jedesmal zu. Die Ergebnisse der P_2O_5-Bestimmungen waren so zufriedenstellend, dabei die Ausführung der *Lorenz*schen Methode eine so leichte und schnelle, daß ich beschloß, eine Anzahl Analysen mit Lösungen von bekanntem P_2O_5-Gehalt zu machen, um dadurch noch einmal auf die große Einfachheit und Genauigkeit dieser Arbeitsweise aufmerksam zu machen. Die Bestimmung der Phosphorsäure auf diesem Wege wird sogar noch bequemer, als ich sie eben beschrieben habe, denn meine Versuche haben ergeben, daß eine Fällung des P_2O_5 mit dem Sulfatmolybdänreagens nicht an die Gegenwart von Salpetersäure in der zu fällenden Lösung gebunden ist. Die Phosphorsäurebestimmung geht genau so gut vonstatten in schwefelsaurer, ja sogar auch in wässeriger Lösung. Die Befürchtung, es könnte freie Molybdänsäure ausfallen, wurde durch Untersuchungen in dieser Richtung widerlegt.

Es wurden 50 ccm destillierten Wassers + 3 ccm konzentrierter H_2SO_4, 50 ccm destillierten Wassers + 1 ccm H_2SO_4 und 50 ccm destillierten Wassers ohne jeglichen Zusatz genau nach *Lorenz* erhitzt und mit Sulfatmolybdänreagens versetzt. Während bei den sauren Lösungen nach 24 Stunden auch nicht der geringste Niederschlag zu sehen war, verhielt sich die rein wässerige Lösung etwas anders. Auch die eine der drei Parallelbestimmungen blieb vollkommen klar, während sich bei den beiden anderen ein Hauch eines Niederschlags erkennen ließ, allerdings nur dadurch, daß ich mit einer Gummifahne den Boden des Glases rieb und hinterher ganz schwache Streifen entdecken konnte. Es handelte sich eben wirklich nur um einen Hauch, der bei einer P_2O_5-Bestimmung gar nicht zu berücksichtigen ist, da man ja durch 30,35 dividiert, um die gesuchte Menge P_2O_5 zu erhalten. Meine Versuche geben dafür die Bestätigung.

Tabelle I.

0,5303 g KH_2PO_4 (von *Kahlbaum*) in 500 ccm H_2O gelöst, d. h. in 50 ccm dieser Lösung sind 27,668 mg P_2O_5 enthalten.

Zusatz zu 50 ccm Lösung	Gewicht des Niederschlags g	P_2O_5 mg
—	0,8393	27,655
	0,8387	27,636
2,5 ccm Säuregemisch	0,8406	27,698
	0,8400	27,678

Tabelle II.

0,6761 g KH_2PO_4 gelöst in 500 ccm H_2O; d. h. in 50 ccm 35,275 mg P_2O_5.

Zusatz zu 50 ccm Lösung	Gewicht des Niederschlags g	P_2O_5 mg
—	1,0704	35,269
	1,0695	35,240
2,5 ccm Säuregemisch	1,0710	35,290
	1,0705	35,273

Es folgen nun einige Bestimmungen aus einem Stoffwechselversuch, und zwar aus Hundeharn und -kot, aus Reis und einem Kalkphosphorpräparat. Bestimmte Mengen davon wurden nach *Neumann-Gregersen* verascht. Von jeder fertigen Lösung nahm ich zweimal 40 ccm. Während ich die eine Flüssigkeitsmenge mit 10 ccm HNO_3 ($s = 1,2$) auf 50 ccm brachte, gab ich zur Parallelbestimmung nur 10 ccm H_2O. Aus der Tabelle ergibt sich die gute Übereinstimmung.

Tabelle III.

Zusatz	Harn		Kot		Fleisch		Kalkphosphorpräparat	
	Gewicht d. Niederschlags g	P_2O_5 mg	Gewicht d. Niederschlags g	P_2O_5 mg	Gewicht d. Niederschlags g	P_2O_5 mg	Gewicht d. Niederschlags g	P_2O_5 mg
10 ccm HNO_3	0,1569	5,169	0,4512	14,897	0,0602	1,984	1,1977	39,465
10 „ H_2O .	0,1562	5,147	0,4517	14,884	0,0607	2,000	1,1979	39,471

Aus den beiden nächsten Tabellen ist zu ersehen, wieviel konzentrierte H_2SO_4 zu 50 ccm Lösung zugesetzt werden kann, ohne daß die Bestimmung dadurch fehlerhaft wird. Der Kürze halber gebe ich von jetzt ab nur noch die gefundene Menge P_2O_5 an, nicht mehr das Gewicht des Niederschlags.

Tabelle IV.

0,5303 g KH_2PO_4 gelöst in 500 ccm H_2O (s. Tabelle I); d. h. in 50 ccm 27,668 mg P_2O_5.

Zusatz zu 50 ccm Lösung	Gefunden P_2O_5	
	mg	mg
—	27,655	27,636
2,5 ccm H_2SO_4 . .	27,675	27,692
5,0 „ H_2SO_4 . .	27,507	27,530
10,0 „ H_2SO_4 . .	—	26,786

Tabelle V.

100 ccm der m/15 KH_2PO_4-Lösung zu Enzymstudien nach *Sörensen* wurden auf 1000 ccm verdünnt, d. h. in 50 ccm 23,679 mg P_2O_5.

Zusatz zu 50 ccm Lösung	Gefunden P_2O_5		
	mg	mg	mg
—	23,655	23,642	23,658
2,5 ccm H_2SO_5 . .	23,638	23,694	23,672
5,0 „ H_2SO_4 . .	23,636	23,642	23,626
10,0 „ H_2SO_4 . .	22,913	23,118	23,187

In Tabelle IV ist schon bei Zusatz von 5 ccm H_2SO_4 zu 50 ccm Lösung eine etwas größere Abweichung festzustellen, die aber im schlimmsten Falle auch nur 0,6 Proz. beträgt, dagegen reihen sich in Tabelle V die entsprechenden Werte denen mit geringerem Säurezusatz ein. Aus Tabelle IV und V erkennt man aber ohne weiteres, daß beim Zusatz von 10 ccm H_2SO_4 viel zu niedrige Werte gefunden werden.

Im allgemeinen wird man bei allen Stoffwechseluntersuchungen mit einer Menge von 1 bis 3 ccm H_2SO_4 in einer Bestimmung arbeiten. Denn selbst wenn man am Anfang der *Neumann-Gregersen*schen Veraschung 30 ccm Säuregemisch zusetzen, nachher die fertige Lösung nur auf 300 ccm auffüllen und davon 50 ccm zu einer Bestimmung nehmen würde, so enthielten diese 50 ccm doch im Höchstfall nur 2,5 ccm H_2SO_4.

Die beiden letzten Tabellen sollen zeigen, wie man auch geringe Mengen noch mit großer Genauigkeit kestimmen kann.

Tabelle VI.

0,4414 g KH_2PO_4 gelöst in 500 ccm H_2O. Zu jeder Bestimmung 1 ccm konzentrierter H_2SO_4 zugesetzt.

Lösung ccm		Gefunden P_2O_5				Berechnet P_2O_5
		mg	mg	mg	mg	mg
40	auf 50 ccm verdünnt	18,390	18,385	18,399	18,416	18,424
25		11,500	11,493	11,497	11,499	11,515
10		4,604	4,607	4,611	4,614	4,606

Tabelle VII.

0,7150 g KH_2PO_4 gelöst in 500 ccm H_2O; d. h. in 50 ccm 37,305 mg P_2O_5.

Zusatz zu 50 ccm Lösung	Gefunden P_2O_5			
	mg	mg	mg	mg
2 ccm H_2SO_4	37,297	37,290	37,300	37,313

Tabelle VIII.

10 ccm der Lösung wurden verdünnt auf 500 ccm. Davon wurden 50 ccm, entsprechend 0,746 mg P_2O_5 zu jeder Bestimmung genommen.

Zusatz zu 50 ccm Lösung	Gefunden P_2O_5			
	mg	mg	mg	mg
2 ccm H_2SO_4	0,751	0,748	0,742	0,745

Zusammenfassung.

1. Es wird auf die vielen Modifikationen hingewiesen, die die Phosphorsäurebestimmung nach *Neumann* im Laufe der Jahre erfahren hat, und die Methode der Äthertrocknung des Ammoniumphosphormolybdats nach *N. v. Lorenz* wegen ihrer großen Einfachheit und Genauigkeit besonders empfohlen.

2. Die zuletzt genannte Arbeitsweise gestaltet sich noch einfacher, da die Gegenwart von Salpetersäure in der zu fällenden Lösung nicht nötig ist.

3. Es werden einige Tiegelarten besprochen, die für die Ausführung der Phosphorsäurebestimmung zweckmäßig sind.

Einige Gedanken über die zentrale Stellung der Kohlenhydrate in der Organismenwelt.

Von

Emil Abderhalden (Halle a. d. S.).

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Halle a. d. S.)

(Eingegangen am 20. Dezember 1924.)

Der Jubilar, Herr *Max Cremer*, hat unsere Kenntnisse auf dem Gebiete der Kohlenhydratphysiologie in vieler Hinsicht gefördert und vor allen Dingen Einblicke in die Herkunft von Zucker aus anderen Quellen als aus vorgebildeten Kohlenhydraten im tierischen Organismus eröffnet. Die kleine Arbeit, die ich ihm widmen möchte, gibt Gelegenheit, einige Gedanken zum Ausdruck zu bringen, die vielleicht den Blick für manches Geschehen in der gesamten Organismenwelt erweitern können.

Die Forschung geht mancherlei Wege. Sie spezialisiert sich mit Vorteil. Zumeist sind es Fortschritte in der Methode, die es uns ermöglichen, zu neuen Ergebnissen zu kommen oder auch alte eindeutig zu sichern. Ergebnis reiht sich an Ergebnis. Befunde allein können nicht befriedigen, es tritt sofort das Bestreben auf, jeden einzelnen Vorgang in seinen Einzelheiten zu erklären, und zwar auch dann, wenn wir ihn nur in kleinen Teilen durch das Experiment aufklären können. Auch das befriedigt nicht vollkommen, vielmehr ist erst dann, wenigstens für einige Zeit, ein gewisser Abschluß einer Forschung erreicht, wenn von höheren Gesichtspunkten aus die einzelnen Ergebnisse über den Einzelfall hinaus für den gesamten Organismus von Bedeutung geworden, d. h. in das gesamte Geschehen eingeordnet sind. Von Zeit zu Zeit wird der Blick über das Individuum, die einzelne Art, über Tierklassen und schließlich über das gesamte Tierreich hinausschweifen und die Pflanzenorganismen und schließlich die gesamte Organismenwelt umfassen.

Nach allgemeiner Annahme vollzieht sich das Werden organischer Substanzen im Pflanzenreich über Formaldehyd zu Kohlenhydraten. Von diesen oder ihren Abkömmlingen aus zweigen sich dann alle

Kohlenstoffverbindungen ab, die die einzelne Pflanzenart hervorbringt. Sonnenenergie wird in chemische Energie verwandelt. Der tierische Organismus übernimmt mit den organischen Substanzen seiner Nahrung, die ja primär die Pflanze darstellt, Energie und zugleich Verbindungen mit bestimmter Struktur. Mit Hilfe seiner Fermente läßt er im Darmkanal aus den mannigfaltigen organischen, zusammengesetzten Verbindungen einheitliche Bausteine hervorgehen. Jedes einzelne Spaltstück läßt noch erkennen, von welcher Verbindungsklasse es herstammt; dagegen ist nicht mehr feststellbar, in welcher Art und Weise der einzelne Baustein in das komplizierte Gebilde, dem es entstammt, eingefügt war. Im Zellstoffwechsel vollzieht sich eine zweite Nivellierung, indem die Bausteine der verschiedenen organischen Nahrungsstoffe schließlich in Verbindungen der Drei- und Zwei-Kohlenstoffreihe zu stickstofffreien Verbindungen zusammenfließen, die in ihrem Aufbau nicht mehr erkennen lassen, woher sie stammen. Dann setzt endlich die Bildung der Stoffwechselendprodukte ein.

Es ist nun von hohem Interesse, daß sich immer mehr Anhaltspunkte finden, wonach im tierischen Organismus den Kohlenhydraten auch eine zentrale Stellung zuzukommen scheint. Es spricht vieles dafür, daß die Muskelzelle die Energie zur Arbeitsleistung aus einem ganz bestimmten Material bezieht, und zwar scheinen ausschließlich Verbindungen in Frage zu kommen, die in die Kohlenhydratreihe hineingehören (*Embden*, *Meyerhof* u. a.). Es erscheint mir von größtem Interesse zu sein, daß das Werden und Vergehen organischer Substanz in der Organismenwelt sehr wahrscheinlich über bestimmte gleichartige Verbindungen führt, und vielleicht Pflanze und Tier in ihren Stoffwechselvorgängen viel enger verknüpft sind, als es zunächst den Anschein hat. Bestätigt sich die Vorstellung, wonach der Weg des Abbaues teils unter Benutzung von Synthesen über Kohlenhydrate, ja sogar vielleicht ausschließlich über Kohlenhydrate führt, dann lohnt es sich, die Vergleiche zwischen der Kohlensäureassimilation durch die Pflanze unter Festlegung von Energie in engere Beziehung zur Zerlegung der Kohlenhydrate durch die tierische Zelle unter Infreiheitsetzung von Energie zu setzen. Es ist wohl möglich, daß der Aufbau der Kohlenhydrate in der Pflanze aus Kohlensäure und Wasser über gleiche oder doch ähnliche Verbindungen führt, wie der Abbau in den Zellen der tierischen Organismen (und übrigens auch in denen der Pflanze). Es sei in dieser Hinsicht darauf hingewiesen, wie fruchtbar die Verfolgung der Einzelvorgänge der alkoholischen Gärung für die Auffassung des Abbaues von Zucker in den Muskelzellen und in anderen Geweben geworden ist (*Carl Neuberg*, *Embden*, *O. Meyerhof* u. a.). Es finden sich so außerordentlich viele enge Beziehungen zwischen dem Stoffwechsel der Pflanze und demjenigen des Tieres, daß es verlockend ist, ihrem Wesen tiefgründiger

nachzugehen. Es sei unter anderem an die Verwandtschaft der Struktur des Chlorophylls und des Blutfarbstoffs erinnert und an so viele Verbindungen, die den Tier- und Pflanzenzellen im Prinzip in gleicher Weise eigen sind. Fließt im tierischen Organismus, wie es scheint, jedoch noch nicht lückenlos bewiesen ist, der ganze Umsatz sämtlicher organischer Substanzen in bestimmten Verbindungen, die nahe Beziehungen zu den Kohlenhydraten haben, zusammen, dann ergeben sich viele neue Ausblicke, vor allen Dingen auch in bezug auf die Wirkungen bestimmter Inkretstoffe, z. B. des Adrenalins und des Insulins.

Über die phytochemische Reduktion des α, α, β-Trichlorbutylaldehyds zum 2, 2, 3-Trichlorbutanol.

Von

L. Rosenfeld (Charkow).

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie und Biochemie in Berlin-Dahlem.)

(Eingegangen am 17. Dezember 1924.)

Unter dem Namen Butylchloral haben *G. Krämer* und *A. Pinner*[1]) 1870 einen Körper beschrieben, der durch Einwirkung von Chlor auf gekühlten Acetaldehyd entsteht. Durch Chlorierung bildet sich, wie man annehmen kann, zunächst Monochloraldehyd, der sich mit unverändertem Acetaldehyd zu Chlorcrotonaldehyd kondensiert und zugleich zwei Halogenatome an der doppelten Bindung aufnimmt. Demgemäß kommt dem Butylchloral die Formel $CH_3 . CHCl . CCl_2 . CHO$ zu. Dieser Körper hat in Gestalt seines Hydrats, des *Butylchloralhydrats*, dadurch ein gewisses Interesse erlangt, daß er zeitweise als Schlafmittel Verwendung fand. Nach *O. Liebreich* ist es ein gutes Sedativum und übt eine starke, aber vorübergehende hypnotische Wirkung aus. Bei Einverleibung in den Tierkörper wird der Tri-chlor-butyl-aldehyd in die sogenannte Uro-butyl-chloralsäure verwandelt; sie ist von *v. Mehring*[2]) als eine gepaarte Glucuronsäure erkannt worden, deren glucosidische Komponente der entsprechende Tri-chlor-butyl-alkohol ist. Letzterer ist auch auf rein chemischem Wege von *K. Garzarolli-Thurnlackh*[3]) erhalten worden, nämlich durch Umsetzung von Butyl-chloral mit Zinkdiäthyl und Zerlegung der Additionsverbindung mittels verdünnter Salzsäure.

---

[1]) *G. Krämer* und *A. Pinner*, Ber. **3**, 383. 1870; **8**. 1561. 1875.
[2]) *v. Mehring*, H. **6**, 480. 1882.
[3]) *K. Garzarolli-Thurnlackh*, Ann. **213**, 369. 1882; **223**. 166. 1884.

Nach den Erfahrungen, die über die *phytochemische Reduktion* vorliegen, schien es nun nicht ausgeschlossen, diesen schwer zugänglichen Poly-halogenalkohol auch auf biologischem Wege zu gewinnen. Dabei war Bedingung, daß das Ausgangsmaterial, das Butylchloral-hydrat, für die Hefe verhältnismäßig ungiftig sei. Diese Voraussetzung trifft zu. Man erhält mit der nachfolgend beschriebenen Arbeitsweise ohne Schwierigkeiten und in trefflicher Ausbeute das 2, 2, 3-Tri-chlorbutanol, $CH_3 . CHCl . CCl_2 . CH_2OH$. Ersichtlicherweise besitzt dasselbe ein asymmetrisches Kohlenstoffatom, und im Einklang mit allen bei der phytochemischen Reduktion gemachten Feststellungen[1]) ist auch der von mir gewonnene trichlorierte Butylalkohol optisch aktiv, und zwar dextrogyr gewesen; er verhält sich also in dieser Beziehung wie das gleichfalls jüngst durch phytochemische Reduktion bereitete γ-Chlor-β-oxy-butan[2]) sowie der α, α-Di-chlor-iso-propyl-alkohol[3]).

Die Darstellung selbst geschah folgendermaßen.

a) 200 g Rohrzucker wurden in 2 Liter Wasser von 40^0 gelöst, mit 200 g obergäriger Preßhefe versetzt. Nach Beginn lebhafter Gärung wurde eine Lösung von 20 g Butyl-chloralhydrat in 600 ccm Wasser hinzugegeben, wodurch nur eine geringe Gärungshemmung verursacht wurde. Nach viertägigem Stehen bei Zimmertemperatur wurde filtriert und destilliert. Aus dem Übergegangenen wurde der entstandene Tri-chlorbutyl-alkohol mit Äther extrahiert. Nach Trocknung des Ätherauszuges über geglühtem Natriumsulfat wurde dieser am Birektifikator langsam verdampft und der Rückstand im Vakuum fraktioniert. Der bei 40 mm bis zu 120^0 übergehende Anteil kristallisierte beim Stehen im Eisschrank. Die abgeschiedene Masse lieferte nach Kristallisation aus Äther reinen schneeweißen Tri-chlorbutyl-alkohol vom Schmelzpunkt 61 bis 62^0.

Bei der Destillation konnte ich bereits die Abscheidung von Kristallen im Kühlersystem beobachten, aber empfehlenswerter war doch die Gewinnung durch Ausäthern. Unvorsichtigerweise war zuerst ein Kupferkolben als Destillationsgefäß benutzt; infolge der Reaktion der sehr beweglichen Halogenatome im Tri-chlorbutyl-alkohol mit dem Metall fällt dabei ein Teil der Substanz der Zersetzung anheim. Deshalb wurde später nur in Glasgefäßen gearbeitet.

---

[1]) *C. Neuberg* mit *J. Kerb*, *W. H. Peterson*, *M. Ringer*, *A. Lewite*, *E. Kerb* sowie *E. Färber* und *F. F. Nord*, Ber. **46**, 2228, 1913; diese Zeitschr. **67**, 32, 1914; **90**, 388, 1918; **91**, 257, 1918; **92**, 96 und 111, 18; **112**, 313, 1920; Ber. **52**, 2237 und 2248, 1919.

[2]) *P. Santomauro*, diese Zeitschr. **151**, 48, 1924.

[3]) *H. K. Sen*, ebendaselbst **151**, 51, 1924.

b) 500 g Stärkesirup von rund 80 Proz. Zuckergehalt wurden in 4,5 Liter Wasser gelöst. Mit 250 g untergäriger Patzenhofer Bierhefe wurde die Gärung bei Zimmertemperatur eingeleitet. Alsdann ließ ich langsam eine Lösung von 40 g Butyl-chloral-hydrat in 800 ccm verdünnten Alkohols hinzutropfen. Nach 48stündiger Aufbewahrung bei 18 bis 21° wurden nochmals 200 g der gleichen Hefe hinzugegeben. Das Gemisch wurde nunmehr unter öfterem Durchschütteln im Brutschrank bei 37° aufbewahrt. Darauf wurde filtriert und mit Wasserdampf der gebildete Tri-chlorbutyl-alkohol zusammen mit dem gewöhnlichen Weingeist abgetrieben. Die Destillation wurde so lange fortgesetzt, bis einige Kubikzentimeter des Destillats mit heißer *Fehling*scher Mischung nicht mehr reagierten [Tri-chlorbutyl-alkohol reduziert stark[1]) alkalische Kupferlösung!]. Die erschöpfende Ausätherung und Vakuumdestillation gab in diesem Falle eine Fraktion, die sofort, teilweise sogar schon im Kühler, erstarrte. Der Ertrag an reinem Tri-chlorbutyl-alkohol war 25 g.

c) Um die Ausbeute genau zu bestimmen, wurden 250 g Stärkezucker in 2250 ccm Wasser mit 125 g Patzenhofer Unterhefe vergoren, und zwar nach langsamer Hinzufügung von 10 g Butyl-chloral-hydrat in 300 ccm Wasser. Die Aufarbeitung erfolgte diesmal folgendermaßen. Das Gärgut wurde filtriert, der auf dem Filter verbleibende Rückstand wurde mit 200 ccm warmen Wassers ausgewaschen. Das klare Filtrat wurde mit Wasserdampf destilliert und die übergegangene Flüssigkeit ausgeäthert. Der Äther hinterließ beim Verdampfen am Birektifikator ein dickflüssiges Liquidum, das beim Stehen im Exsikkator in der Kälte schnell kristallisierte. Das mit wenig Öl durchtränkte Erzeugnis wurde auf Ton gestrichen und lieferte durch Kristallisation aus Äther 6,8 g reinen Tri-chlorbutyl-alkohol vom Schmelzpunkt 62°.

Außer durch den Schmelzpunkt, der scharf mit den Angaben der Literatur übereinstimmt, erkennt man das Vorliegen von Tri-chlorbutyl-alkohol aus den angeführten Halogenanalysen.

0,1524 g Substanz lieferten 0,3692 g AgCl;
0,1570 g Substanz lieferten 0,3770 g AgCl.
$C_4H_7OCl_3$: Ber. Cl = 60,00 Proz.; gef. Cl = 59,93 und 59,40 Proz.

Aus diesen Zahlen folgt, daß dem Tri-chlorbutyl-alkohol kein Ausgangsmaterial (Butyl-chloral-hydrat) anhaften kann; denn dieses enthält weit weniger Halogen, nämlich Chlor = 55 Proz.

Sämtliche Proben des Tri-chlorbutyl-alkohols waren rechtsdrehend. Für die im Versuch b erhaltene Substanz gebe ich folgenden Wert an:

[1]) Offenbar erzeugt das Alkali primär einen Ketonalkohol, etwa $CH_3 . CHOH . CO . CH_2OH$.

0,400 ccm Substanz, gelöst in 2 ccm absoluten Alkohols, wiesen im ½-dm-Rohr eine Rechtsdrehung von + 0,25° auf.

$$[\alpha]_D^{18} = +2,5^0.$$

Die mitgeteilten Daten lehren, daß der Tri-chlorbutyl-alkohol auf biochemischem Wege ein leicht zugänglicher Körper geworden ist, und es zeigt sich[1]) von neuem, daß Verbindungen, die gegen die gewöhnlichen Reduktionsmittel des Laboratoriums außerordentlich empfindlich sind, bei der milden biochemischen Behandlung sich leicht reduzieren lassen.

---

[1]) Vgl. *C. J. Lintner* u. *H. Lüers* 88, 122, 1913; *R. Willstätter* u. *W. Duisberg*, Ber. **56**, 2283, 1923.

Zur Kenntnis der Vitamine.

IV. Mitteilung.

Über den Gehalt des Pferdefleisches an Vitamin A und B.

Von

Arthur Scheunert und Charlotte Hermersdörfer.

(Aus dem veterinär-physiologischen Institut der Universität Leipzig.)

(Eingegangen am 23. Dezember 1924.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Über den Vitamingehalt des Fleisches liegen verschiedene Untersuchungen vor, die vom Gesichtspunkte der menschlischen Ernährung aus die Verteilung von Vitaminen in den Geweben des Tierkörpers, die Beeinflussung des Vitamingehaltes durch die Zubereitung und durch die Konservierungsverfahren zum Gegenstande haben. Soweit wir diese Arbeiten überblicken, erstrecken sie sich, abgesehen von einigen Arbeiten an Versuchstieren mit rein theoretischer Fragestellung, auf die üblichen Schlachttiere [Rind, Schaf, Schwein[1])], während die Frage nach dem Vitamingehalt des Pferdefleisches noch keine Bearbeitung erfahren zu haben scheint.

Abgesehen davon, daß Pferdefleisch auch als menschliches Nahrungsmittel eine keineswegs ganz unbedeutende Rolle spielt, ist sein Vitamingehalt für die mit Tierversuchen beschäftigten wissenschaftlichen Institute von Wichtigkeit deshalb, weil die als Versuchstiere gehaltenen Hunde, Katzen, Ratten und andere vielfach eine Zulage von Pferdefleisch zu ihrer Nahrung erhalten. Gerade dieser Verwendungszweck

[1]) *E. A. Copper*, Biochem. Journ. **7**, 268, 1913; *C. Voegtlin* and *Towles*, Journ. of Pharm. **5**, 67, 1913; *M. Sullivan* and *C. Voegtlin*, Journ. of biol. Chem. **24**, 16, 1916; *E. Weill*, *C. Mouriquand* and *P. Michel*, Soc. Biol. **79**, 189, 1916; *S. W. Cole*, Roy. Soc. London 1917; *Osborne* and *Mendel*, Journ. of biol. Chem. **32**, 309, 1917; *R. Willcox*, Lancet **2**, 677, 1917; *T. B. Osborne* and *L. B. Mendel*, Journ. of biol. Chem. **34**, 17, 1918; *W. Pitz*, ebendaselbst **33**, 471, 1918; **36**, 439, 1918; *R. A. Dutscher*, *E. M. Pierson* and *Al. Biester*, ebendaselbst **42**, 301, 1920; *F. K. Swoboda*, ebendaselbst **44**, 532, 1920; *H. T. Parsons*, ebendaselbst **44**, 587, 1920; *E. B. Vedder*, Milit. Surg. **50**, 534, 1922; *R. Hoagland*, Ref. nach Experiment Station Record **49**, 63, 1923; *A. M. Wright*, Journ. Soc. Chem. Ind. **42**, Nr. 41, 1923; New Zeal. Journ. Sci. and Technol. **6**, Nr. 3, 1923, S. 129.

führte uns zu den folgenden Untersuchungen, da wir Beobachtungen machten, die auf einen sehr hohen Gehalt des gekochten Pferdefleisches an Vitamin A schließen ließen. Da Pferdefleisch wohl ausschließlich gekocht verbraucht und kaum etwas anderes als Muskelfleisch verwendet wird, erstreckten sich zunächst unsere Untersuchungen hierauf. Selbstverständlich ist eine weitere Ausdehnung der Untersuchungen auf die einzelnen Teile des Pferdekörpers notwendig und von uns auch in Aussicht genommen.

Zu unseren Versuchen wurde das Pferdefleisch, wie es im Handel erhalten wurde, 2 Stunden gekocht und nur fettfreies Material verwendet, um Täuschungen zu vermeiden. Es handelt sich also um eine Prüfung dessen, was man ganz allgemein unter dem Namen *gekochtes mageres Pferdefleisch* in der Futterküche verstehen würde.

Die Versuche wurden ausschließlich an jungen, wachsenden Ratten ausgeführt und dabei so vorgegangen, wie kürzlich in der dritten Mitteilung ausführlich beschrieben wurde[1]). Eine grundsätzliche Änderung gegenüber dem früheren Vorgehen besteht nur darin, daß wir die vitaminfreie Grundnahrung nicht mehr in Kuchen gebacken, sondern in Pulverform verabreichten, und das Plasmon-Lactalbumingemisch durch reines Casein ersetzten. Das früher benutzte Plasmon-Lactalbumingemisch erschien wenig empfehlenswert, da die Vorbereitung seiner Bestandteile durch Extraktion usw. naturgemäß mehr Mühe verursachen mußte, als die Verwendung eines einheitlichen Materials. Ein brauchbares Casein, welches früher schwer erhältlich war, konnte uns von der Firma *Merck* geliefert werden in Form von technischem Casein.

Es wurden zur Feststellung der Eignung des *Merck*schen Caseins vergleichende Fütterungsversuche angestellt. Hierzu erhielten drei Gruppen von je zwei Ratten (einer männlichen und einer weiblichen Ratte) die gleich zusammengesetzte Grundnahrung, welche enthielt:

Eiweiß	18,00 Proz.
Schweinefett	15,00 „
Cellulose	2,00 „
Salzgemisch	6,14 „
Stärke	58,86 „

außerdem Zulage pro Tier täglich:

Butterfett	0,5 g
Hefe	0,5 g

Nur der Eiweißanteil der Ration war verschieden. Er bestand bei
Gruppe I aus *Lactalbumin* 13,5 Proz., *Plasmon* 4,5 Proz.
Gruppe II aus *Casein Merck*;
Gruppe III aus *amerikanischem Casein*.

[1]) *Scheunert* und *Schieblich*, Chemie der Zelle und Gewebe **12**, 45, 1924.

Das letztere wurde uns von Herrn Prof. *Mandel*, New-York, in freundlicher Weise übersandt, wofür wir ihm auch hierdurch unseren besten Dank aussprechen. Die Wachstumskurven der Tiere (vgl. Abb. 1) zeigen, daß das *Merck*sche Casein den anderen zwei Eiweißarten mindestens ebenbürtig ist. Wir verwenden seither nur noch dieses Casein zu unseren Versuchen.

Versuche mit Pferdefleisch.

Zur Sicherung der Vitaminfreiheit der Grundnahrung extrahierten wir sowohl das Casein, als auch die Stärke mit Alkohol und Äther, ebenso wurde die als Vitamin-B-Träger zugelegte Trockenhefe der gleichen Extraktion unterworfen.

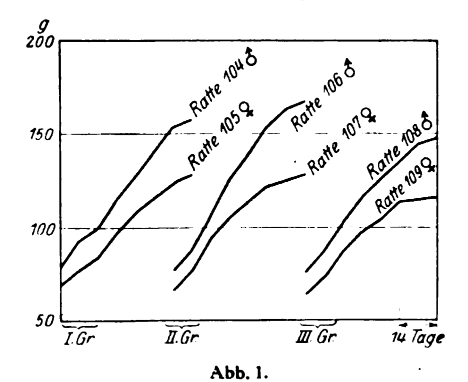


Abb. 1.
I. Gruppe: Grundnahrung mit Lactalbumin und Plasmon.
II. Gruppe: Grundnahrung mit Casein *Merck*.
III. Gruppe: Grundnahrung mit amerikanischem Casein.

Die Versuchsratten hatten ein Anfangsgewicht von 38 bis 57 g (eine einzige von 72 g) und wurden in fünf Gruppen zu je zwei Tieren eingeteilt. Sämtliche Tiere erhielten unsere vitaminfreie Grundnahrung in der oben beschriebenen Zusammensetzung in Pulverform verabreicht. Die Gruppenfütterung gestaltete sich im einzelnen wie folgt.

Gruppe I erhielt als Zulage 0,5 g Hefe und 0,5 g Butterfett. Sie diente als Kontrolle für die Vollwertigkeit der Nahrung durch Zufuhr der notwendigen Vitamine A und B.

Gruppe II erhielt ebenfalls 0,5 g Hefe und 0,5 g Butterfett und außerdem eine Zulage von 2 g Pferdefleisch pro Tag und Tier. Hierdurch sollte festgestellt werden, ob durch Zulage des Pferdefleisches noch eine Verbesserung des Wachstums erzielt werden könnte.

Gruppe III erhielt nur 0,5 g Hefe, aber keine Butterfettzulage. Eine Zugabe von 2 g Pferdefleisch, die auch diese Tiere erhielten, sollte dartun, ob der Ausfall an Vitamin A durch die Zulage des Pferdefleisches ausgeglichen werden könnte.

Gruppe IV erhielt *keine* Hefe, wohl aber 0,5 g Butterfett und die gleiche Pferdefleischzulage von 2 g pro Tier, sollte also dartun, ob der Mangel an Vitamin B durch Pferdefleisch ausgeglichen werden könnte.

Gruppe V endlich erhielt weder Vitamin-A- noch Vitamin-B-Zulage, wohl aber 2 g Pferdefleisch, um festzustellen, ob dieses beide Vitamine den Tieren zuführt.

Der Verlauf der Wachstumskurven (vgl. Abb. 2) zeigt eindeutig das Versuchsergebnis an. Zu bemerken ist zu

Gruppe I, daß die Kontrollratte 153a infolge einer akuten Störung am 12. Tage aus dem Versuch genommen werden mußte. Sie wurde durch die Ratte 153b ersetzt. Der Wachstumsverlauf bei Gruppe I entspricht dem, den wir bei unseren Versuchstieren als normal regelmäßig finden. Er entspricht auch den in Abb. 1 gegebenen Kurven.

Gruppe II, welche noch Pferdefleisch zur an sich schon vollwertigen Kost erhielt, zeigt ein gleiches Verhalten. Ratte 158 ist hier noch etwas besser gewachsen wie die Tiere von Gruppe I.

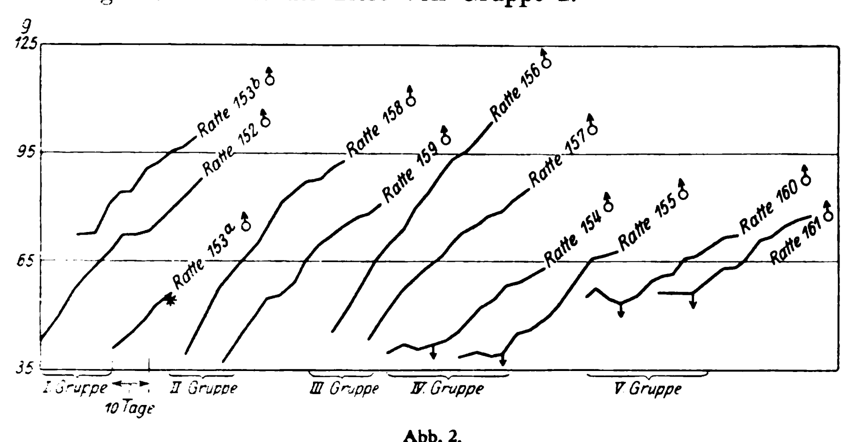


Abb. 2.

I. Gruppe: Grundnahrung + 0,5 g Hefe und 0,5 g Butterfett. II. Gruppe: Grundnahrung + 0,5 g Hefe, 0,5 g Butterfett u. 2 g Pferdefleisch. III. Gruppe: Grundnahrung + 0,5 g Hefe und 2 g Pferdefleisch.

IV. Gruppe: Grundnahrung + 0,5 g Butterfett und 2 g Pferdefleisch. V. Gruppe: Grundnahrung + 2 g Pferdefleisch.

▼ Zugabe von Vitamin B haltigem Grünfutter.

Der Ausfall von Vitamin A in *Gruppe III* scheint hier keine Schädigung des Wachstums hervorzurufen. Das eine Tier 156 ist sogar am besten von allen gewachsen. Es ist daraus zu schließen, daß mit der Zulage von gekochtem Pferdefleisch genügend Vitamin A zugeführt worden ist, um die an sich vitamin-A-freie Nahrung vollwertig zu machen.

Anders war der Versuchsverlauf in *Gruppe IV*. Hier bestand Mangel an Vitamin B, und die Pferdefleischzulage vermochte ihn nicht auszugleichen, denn das Wachstum der Versuchstiere stockte, und ihr äußeres Aussehen war bereits am neunten Tage so schlecht, daß zu einer Vitamin-B-Zulage geschritten werden mußte. Diese erfolgte in Gestalt von künstlich getrocknetem Grünfutter, von dem die Tiere 2,85 g auf je 100 g Grundfutter erhielten. Das Material, welches nicht sehr reich

an Vitamin B war, führte ihnen immerhin so viel zu, daß das Wachstum sofort wieder in Gang kam, wenn es auch weiterhin schleppender verlief als es bei Hefezufuhr gewesen wäre.

Die *Gruppe V* endlich bestätigt das Ergebnis dieses Versuches durchaus. Hier bestand sowohl Vitamin-A- wie Vitamin-B-Mangel, und das Wachstum kam sehr bald zum Stillstand. Schon nach zehn Tagen war das Aussehen der Tiere bedrohlich. Die Pferdefleischzulage vermochte also bei vollkommen vitaminfreier Nahrung das Wachstum nicht zu sichern. Die Ursache hierfür lag am Mangel von Vitamin B, denn als am zehnten Tage wiederum gemahlenes, künstlich getrocknetes Grünfutter zugelegt wurde, kam unter sofortiger Besserung des Allgemeinzustandes das Wachstum wieder in Gang.

Ganz allgemein zeigen die Versuche, daß ein Mangel an Vitamin A bei keiner der Gruppen bestanden hat. Keratomalacie oder ihre Anfänge wurden *niemals* beobachtet. Der Verlauf der Versuche und ihre Ergebnisse sind somit eindeutig.

Zusammenfassung.

2 Stunden gekochtes, fettarmes Pferdemuskelfleisch enthält reichliche Mengen von Vitamin A, vermag hingegen das Wachstum junger Ratten bei vitamin-B-freier Nahrung nicht zu unterhalten. Es enthält also den wachstumsfördernden Faktor des Vitamins B nicht.

Die Chinhydronelektrode bei klinischen p_H-Messungen.

Von

Rudolf Schaefer und Franz Schmidt.

(Aus der medizinischen Universitätsklinik in Königsberg i. Pr.)

(Eingegangen am 27. Dezember 1924.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Bei dem großen Interesse, das von zahlreichen Wissenschaftsgebieten der Wasserstoffionenkonzentrationsmessung entgegengebracht wird, ist es verständlich, daß man nach den verschiedensten Verfahren zur Messung der H-Ionenkonzentration bzw. des Wasserstoffexponenten p_H gesucht hat. So kommt es, daß die ursprünglich angegebenen Verfahren im Laufe der Zeit mehr oder weniger zahlreiche Verbesserungen und Modifikationen durchgemacht haben, ganz besonders die indirekten Verfahren und die Messung mittels Indikatoren.

Am wenigsten verändert wurde im allgemeinen das potentiometrische Verfahren, wie es in der Form der Gaskette allgemein im Gebrauch ist. Trotzdem ist nicht zu verkennen, daß es durchaus wünschenswert wäre, einige Nachteile der Gaskettenmethodik zu beheben, so z. B. die große Empfindlichkeit der platinierten Platinelektroden gegen Gifte, wie Schwefelwasserstoff, oder auch die verhältnismäßig lange Dauer, die zur Einstellung des endgültigen Potentials nötig ist. Ein anderes Prinzip hat nun, wie im folgenden gezeigt werden wird, zu einer Methode der H-Ionenkonzentrationsmessung geführt, die, speziell für klinische Zwecke, verschiedene Vorzüge vor der Gaskettenmessung hat. Die Grundlagen stützen sich auf die Untersuchungen von *Haber* und *Russ* über die elektrische Reduktion, und zwar speziell auf die Messungen an der ruhenden Chinon-Hydrochinonelektrode. Auch untersuchten die genannten Forscher damals schon die Kette: Wasserstoff/Chinon-Hydrochinon, ebenso wie sie auch die Stabilität des Potentials einer bestimmten Chinhydronlösung feststellten. Zu den genannten Untersuchungen wurden alkoholisch-saure Lösungen von Chinhydron benutzt. Mit *wässerig*sauren Lösungen stellte *E. Biilmann* Versuche an, die zu gut stimmenden Werten führten. In ausführlichen Untersuchungen wurde von dem genannten Autor und später von *Biilmann* und *Lund* die Theorie und die rechnerische Grundlage für die Chinhydron-

elektrode weiter ausgearbeitet, während sich *Sörensen* mit seinen Mitarbeitern damit befaßte, die genauen Grenzen der Chinhydronelektrode und ihren Salzfehler zu erforschen und die Möglichkeit zur Ausmerzung desselben zu geben. Ebenfalls aus den Instituten der Universität *Kopenhagen* stammen spätere Untersuchungen von *Veibel*, der die gute Reproduzierbarkeit der Chinhydronelektrode benutzte, um sie als Vergleichselektrode zu verwerten. Damit war die Chinhydronkette gegeben. Die ursprünglichen Ergebnisse von *Haber* und *Russ* wurden schon vor *Veibel* von *Granger* und *Nelson* ausführlich bestätigt und erweitert.

Die Chinhydronkette fand ihre erste Anwendung auf praktischem Gebiete in den Untersuchungen von *Christensen* und *Jensen* über die Bestimmung der Bodenreaktion. Von den genannten Autoren wurden, nachdem sie nochmals die Genauigkeit der Methode durch eine große Anzahl vergleichender Messungen festgestellt hatten, in ausführlichen Versuchsreihen Böden auf ihre p_H-Werte untersucht. Auch sie kommen zu dem Schluß, daß die Chinhydronkette eine Bereicherung der Methodik auf dem Gebiete der p_H-Messung darstellt. Technische Vereinfachungen des Verfahrens sind in der Arbeit von *M. Trénel* niedergelegt, der ebenfalls die Bodenreaktion mittels der Chinhydronkette bestimmte und ein tragbares Gerät für diesen Zweck angab.

Bei der großen Bedeutung, die die p_H-Messung für die Medizin gewonnen hat, erschien es wünschenswert, festzustellen, ob die p_H-Messung mittels der Chinhydronkette eine Verbesserung für die klinisch in Betracht kommenden Untersuchungen darstellt. Es soll im folgenden über mehr als 500 p_H-Messungen, von denen jede mindestens doppelt, die meisten noch öfter kontrolliert wurden, berichtet und an Hand derer die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen gezeigt werden.

Die Theorie der Chinhydronkette stellt sich in Kürze folgendermaßen dar:

Chinhydron hat die empirische Formel $C_6H_4O_2H_2 \cdot C_6H_4O_2$ und stellt wahrscheinlich eine Verbindung von einem Molekül Hydrochinon und einem Molekül Chinon dar. Es würde sich etwa folgende, allerdings noch nicht feststehende Strukturformel ergeben:

```
      HO ............... O
      |                  ||
      C                  C
  HC/   \CH          HC/   \CH
    |   |              |   |
  HC\   /CH          HC\   /CH
      C                  C
      |                  ||
      HO ............... O
```

Chinhydron ist eine grünbraune kristallinische Substanz, die bei der Oxydation von Hydrochinon mit Eisenchlorid entsteht. Die Löslichkeit des Chinhydrons in Wasser ist ziemlich klein, und es zerfällt dabei in seine Bestandteile Chinon und Hydrochinon, die in gleicher Anzahl vorhanden sind. Bei der gleichzeitigen Anwesenheit von freien H-Ionen in der Lösung treten diese teilweise mit einem entsprechenden Teil des Chinons in Reak-

tion, wobei Hydrochinon entsteht. Dieses Gleichgewicht stellt sich folgendermaßen dar:

$$2\ \mathrm{O{=}C_6H_4{=}O} + 2\,\mathrm{H} \rightleftharpoons 2\ \mathrm{HO{-}C_6H_4{-}OH}$$

Bei der Reaktion zwischen Chinon und freien H-Ionen geben letztere naturgemäß ihre positive Ladung ab, durch die eine in die Flüssigkeit eintauchende Platinelektrode positiv aufgeladen wird. Die Größe der Aufladung steht zu der Wasserstoffionenkonzentration der Lösung in einem ganz bestimmten Verhältnis. Je mehr freie H-Ionen nach Maßgabe des Massenwirkungsgesetzes mit Chinon in Reaktion treten, um so größer wird die positive Ladung der Elektrode. Wird nun eine solche Chinhydronelektrode mit einer anderen Elektrode, zu der eine Potentialdifferenz besteht, leitend verbunden, so ist das zwischen ihnen bestehende Potentialgefälle mit einer der üblichen Methoden meßbar. Bei dieser potentiometrischen Messung muß die Ladung der einen Elektrode, der sogenannten Vergleichselektrode, bekannt sein. Man kann dazu die bei der Gaskette allgemein gebräuchliche Kalomelelektrode oder irgend eine andere Vergleichselektrode verwenden, man kann aber auch eine Chinhydronvergleichselektrode benutzen. Letztere zeichnet sich, wie weiter unten noch zu besprechen ist, durch große Einfachheit in der Handhabung und gute Konstanz aus.

Obgleich nun nach den Untersuchungen, insbesondere von *Biilmann*, die Spannung der Chinhydronelektroden nicht von der Konzentration der Chinhydronlösung abhängig ist, sondern nur durch das relative Verhältnis der Chinon- und Hydrochinonmengen der Lösung beeinflußt wird, und man daher nicht gezwungen ist, bestimmte Chinhydronmengen abzuwägen, so hat es sich doch als besonders empfehlenswert erwiesen, immer dieselbe Konzentration, nämlich eine gesättigte Lösung zu benutzen. Es ist das bei der geringen Löslichkeit des Chinhydrons leicht durchzuführen. Man beschickt die Elektrodengefäße mit einer gesättigten Lösung von Chinhydron in reinstem destillierten Wasser und fügt überschüssiges Chinhydron, das als Bodenkörper bleibt, hinzu. Bei der von *Veibel* angegebenen Chinhydronvergleichselektrode, die bei den vorliegenden Untersuchungen verwandt wurde, taucht die Platinelektrode in eine n/100 Salzsäure, in der so viel Kaliumchlorid gelöst wurde, daß es einer 0,09 n KCl-Lösung entspricht. Hierzu wird Chinhydron bis zur Sättigung gelöst und weiter noch eine kleine Menge überschüssiges Chinhydron zugefügt. Diese Lösung hat einen Wasserstoffexponenten von $p_H = 2{,}04$. Mit Hilfe dieses Wertes läßt sich nun der Wasserstoffexponent einer Flüssigkeit mit unbekannter H-Ionenkonzentration, die in der Chinhydronkette gemessen wird, nach folgender Formel errechnen:

$$p_{H18^\circ} = 2{,}04 + \frac{\pi}{0{,}0577}.$$

Darin ist π die gemessene Potentialdifferenz, ausgedrückt in Volt. Die theoretische Grundlage dieser Gleichung geht auf die *Nernst*sche Formel zurück.

Über die Reproduzierbarkeit der Chinhydronelektrode hat insbesondere *Veibel* Untersuchungen angestellt. Er kommt zu dem Schluß, daß die Chinhydronelektrode in dieser Beziehung der 3,5 n Kalomelelektrode gleichkomme, und daß sie die n/10 Kalomelelektrode übertreffe. Derselbe Autor betont auch, daß sich das Potential der Chinhydronelektrode außerordentlich schnell einstellt.

Im folgenden soll unsere eigene Versuchsanordnung besprochen werden: Bei den potentiometrischen Messungen benutzten wir das Kompensationsverfahren von *Poggendorf*, und zwar in der von *Michaelis* angegebenen Abänderung. Es werden dabei statt einer *Wheatstone*schen Brücke zwei hintereinandergeschaltete Präzisionsstöpsel-Rheostaten als Vergleichswiderstände benutzt, und ferner wird die Potentialdifferenz des Akkumulators durch einen vorgeschalteten Doppelschiebewiderstand so reguliert, daß man aus der Anzahl *Ohm* ohne Umrechnung direkt die Anzahl Millivolt ablesen kann. Der Akkumulator wurde täglich vor Beginn der Messungen mit Hilfe eines Normal-Westonelementes geeicht. Bei der Gaskettenmessung wurde zur Untersuchung der Flüssigkeit mit unbekannter Wasserstoffionenkonzentration ein birnförmiges Wasserstoffelektrodengefäß und als Vergleichselektrode eine gesättigte Kalomelelektrode benutzt, die ebenfalls häufig mittels einer Testlösung von 50 ccm n Natronlauge, 100 ccm n Essigsäure und 350 ccm destillierten Wassers nach *Michaelis* überprüft wurde. Der Wasserstoff wurde im *Kipp*schen Apparat hergestellt und auf die übliche Weise mit Sublimat und Kaliumpermanganat gereinigt. Da die vorliegenden Untersuchungen auf einen ständigen Vergleich zwischen den Resultaten aus der Gaskettenmessung und denjenigen aus der Chinhydronkettenmessung hinausliefen, so war die Verbindung zwischen jeder der beiden Ketten einerseits und der Kompensationsapparatur andererseits so geschaltet, daß durch einen Schalter die gewünschte Verbindung hergestellt werden konnte. Sämtliche Messungen wurden bei 20° ausgeführt.

Bei sämtlichen p_H-Messungen, die in der vorliegenden Untersuchung ausgeführt wurden, wurde neben der Gaskettenmessung und neben der Messung mittels der Chinhydronkette auch die Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration mit Hilfe von Indikatoren angestellt. Wir bedienten uns dabei der Nitrophenolindikatorenmethode nach *Michaelis*. Es kamen ausschließlich die von der Firma *E. Leitz* in den Handel gebrachten fertigen Teströhrchen zur Verwendung unter Benutzung des *Walpole*schen Komparators. Da bekanntlich die Farbunterschiede benachbarter Teströhrchen bei der genannten Anordnung einer Differenz von $p_H = 0{,}2$ entsprechen, so sollen im folgenden immer die *beiden* p_H-Werte angegeben werden, zwischen denen die p_H der untersuchten Flüssigkeit lag, falls nicht eben eine genaue Übereinstimmung der Werte vorlag, um so subjektive Fehler beim Interpolieren auszuschließen.

Bei der Messung mittels der Chinhydronkette wurde als Vergleichselektrode eine Chinhydronelektrode benutzt, deren Herstellung weiter unten beschrieben werden soll, und als Elektrode für die zu untersuchende Flüssigkeit ein Gefäß von genau gleicher Konstruktion. Wir benutzten in Anlehnung an die Angaben von *Christensen* und *Jensen* nachfolgende Elektrodenform.

Ein ziemlich dickwandiges Reagenzglas von gewöhnlichem Durchmesser wird so abgeschnitten, daß es etwa 8 cm lang ist. Dann wird ein doppelt durchbohrter Gummistopfen eingepaßt, durch dessen eine Bohrung ein Glasröhrchen läuft, das unten eine mit einem Platindraht verschweißte dünne Platinblechelektrode trägt, die etwa 1 bis 2 qcm Fläche hat. Der an das genannte Blech angeschweißte Platindraht ist so in das Glas eingeschmolzen, daß das freie Ende in das Innere des Glasröhrchens hineinragt. Hier wird durch Quecksilber der Kontakt mit dem zuführenden Kupferdraht hergestellt. Durch die zweite Bohrung des Gummistopfens läuft ein ziemlich dickwandiges Kapillarrohr, das U-förmig gebogen ist und als Verbindung zwischen der Elektrode einerseits und der Verbindungsflüssigkeit andererseits dient. Zwei derartige Elektrodengefäße genau gleicher Art stellen mit einem kleinen Becherglase, das die Verbindungsflüssigkeit enthält, die ganze Apparatur dar. Sie ist ohne Schwierigkeit in jedem Laboratorium anzufertigen und dementsprechend billig. Die Platinelektroden bei dieser Chinhydronketten-Apparatur waren nicht platiniert.

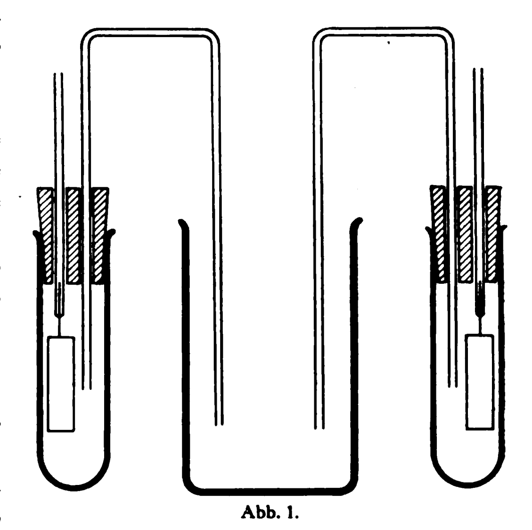


Abb. 1.

Die bei den vorliegenden Messungen benutzte Mikroelektrode besteht aus einem etwa 2 cm langen, unten zugeschmolzenen Glasrohr, das etwa 6 mm lichten Durchmesser hat. Ganz in der Nähe des Bodens ist seitwärts ein rechtwinklig nach oben abgebogenes Glasröhrchen so angeschmolzen, daß keine Verbindung zwischen dem Innern des eigentlichen Elektrodenrohres und dem des eben genannten seitlichen Glasröhrchens besteht; nur ein Platindraht, der einige Millimeter frei in das Innere des Elektrodengefäßes hereinragt, führt durch die Glaswand in das seitliche Ansatzröhrchen herein. Hier wird mit Quecksilber die Ver-

bindung mit dem ableitenden Kupferdraht hergestellt. Die wenigen Millimeter Platindraht, die in das Mikroelektrodengefäß hereinragen, stellen die Elektrode dar. Wie unsere Untersuchungen gezeigt haben, ist das eine vollkommen ausreichende Elektrode, was ja theoretisch auch zu erwarten war. Die Verbindung zwischen dem Mikroelektrodengefäß und der Verbindungsflüssigkeit wird wiederum durch eine U-förmig gebogene, dickwandige Kapillare hergestellt, deren äußerer Durchmesser so gewählt wird, daß sie bequem, aber ohne erheblichen Spielraum in das Mikroelektrodengefäß eingeführt werden kann, und zwar so tief, daß das untere offene Ende der Kapillare nur noch wenige Millimeter von der Platindrahtelektrode entfernt ist. Der Abschluß des Elektrodengefäßes nach außen hin wird so bewerkstelligt, daß ein kurzes, etwa 1 cm langes Stück Gummischlauch, dessen Weite im ungespannten Zustande etwas geringer ist als der äußere Durchmesser des Elektrodengefäßes, außen über das obere, offene Ende des Elektrodengefäßes gestreift wird. Das letzte Drittel des Gummischlauches überragt den oberen, offenen Rand des Elektrodengefäßes, wobei der Gummi durch seine Elastizität seine ursprüngliche Weite beibehält, die, wie eben betont, geringer ist als die lichte Weite des Elektrodenrohres. Durch diese Öffnung des Gummischlauches wird das Verbindungs-U-Rohr hindurchgeführt, wobei sich der Schlauch fest an das Verbindungs-U-Rohr anlegt, so daß hiermit der Abschluß des Elektrodengefäßes auf einfache Weise hergestellt ist.

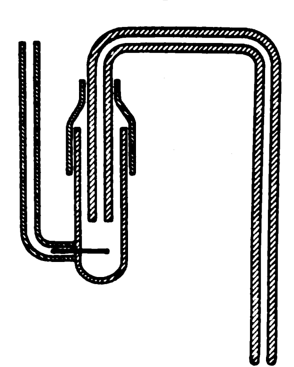


Abb. 2.

Die Füllung der Makroelektrode wird folgendermaßen vorgenommen. In das leere Gefäß bringt man eine geringe Menge Chinhydron (*Merck*) in Substanz hinein. Dann werden einige Kubikzentimeter der Elektrodenflüssigkeit, sei es die weiter unten zu besprechende Vergleichslösung, sei es die auf ihre Wasserstoffionenkonzentration zu untersuchende Flüssigkeit zugegeben und durch vorsichtiges Schütteln die Lösung des Chinhydrons in dieser Flüssigkeit befördert. Da sich Chinhydron nur in sehr geringer Menge in Wasser löst, da andererseits die Lösung fast momentan eintritt, so benötigt diese Maßnahme nur wenige Sekunden. Jetzt wird der Gummistopfen, der in der einen Bohrung die Glasröhre mit der Platinelektrode, in der anderen Bohrung das Verbindungs-U-Rohr trägt, auf das Gefäß aufgesetzt. Der in das Elektrodengefäß hineinragende Schenkel des U-Rohres muß so lang sein, daß sein freies Ende in die Elektrodenflüssigkeit eintaucht. Wenn nun der Gummistopfen fest auf das Elektrodengefäß aufgedrückt wird, so wird durch den Überdruck

im Elektrodengefäß die Flüssigkeit durch den einzig vorhandenen Ausweg, nämlich durch das Verbindungs-U-Rohr hindurchgedrückt. Man setzt das Einpressen des Gummistopfens so lange fort, bis das ganze U-Rohr mit Elektrodenflüssigkeit gefüllt ist, wobei darauf zu achten ist, daß keine Luftblasen zurückbleiben. Ebenso ist es zu vermeiden, daß der fest aufgesetzte Gummistopfen zurückschnellt und dadurch das Verbindungs-U-Rohr wieder leer bzw. die Verbindungsflüssigkeit hochgesaugt wird, was einen beträchtlichen Fehler bedingt. Ist nun in der eben beschriebenen Weise das ganze Verbindungs-U-Rohr mit Elektrodenflüssigkeit gefüllt, so taucht man das freie Ende des U-Rohres in die Verbindungsflüssigkeit, die in unseren Untersuchungen gesättigte KCl-Lösung war. Genau so wird mit dem zweiten Elektrodengefäß verfahren, und man braucht nun nur noch von beiden Platinelektroden über die Kompensationsapparatur hinweg den Strom zu schließen.

Die Füllung der Mikroelektrode geschieht auf ähnliche Weise. In das leere Elektrodengefäß gibt man ein wenig Chinhydron in Substanz. Dann wird aus einer Pipette die zu untersuchende Flüssigkeit durch die Öffnung des Gummischlauches, der auf das obere, offene Ende des Mikroelektrodengefäßes gestreift ist, in das Gefäß eingefüllt, und zwar so viel, daß das Gefäß vollständig und luftblasenfrei gefüllt ist, und die Flüssigkeit oben in einem Meniskus übersteht. Nun schiebt man das Verbindungs-U-Rohr durch die Öffnung des Gummischlauches hindurch in die in dem Elektrodengefäß befindliche Flüssigkeit hinein, wodurch die Flüssigkeit in das U-Rohr hinein und bis an dessen freies Ende durchgedrückt wird. Es ist auch hier zu beachten, daß keine Luftblasen im Verbindungsrohr zurückbleiben. Genau so wie bei der Makroelektrode wird jetzt das freie Ende des Verbindungsrohres in die Verbindungsflüssigkeit, die hier ebenfalls gesättigte KCl-Lösung ist, eingetaucht. Es sei nochmals betont, daß ein Zurücksaugen der Verbindungsflüssigkeit streng vermieden werden muß. Diese Gefahr ist besonders recht groß, wenn man etwa die ganze Mikroelektrode an dem U-Rohr hochhebt. Es wird dabei ein Unterdruck im Elektrodengefäß dadurch erzeugt, daß letzteres durch sein Eigengewicht am Verbindungsrohr abwärts rutscht. Die für die vorliegenden Untersuchungen benutzte Mikroelektrode faßt etwa $^3/_4$ ccm Flüssigkeit, wenn das Gefäß und das ganze Verbindungs-U-Rohr luftblasenfrei gefüllt ist. Sollte sich die Notwendigkeit ergeben, so läßt sich natürlich die ganze Mikroelektrode bedeutend verkleinern und damit die Menge der verbrauchten Flüssigkeit herabdrücken.

Die Chinhydronvergleichselektrode, die sowohl für die Messungen mit der Makro- als auch mit der Mikroelektrode benutzt wurde, wird gefüllt mit einer Flüssigkeit von der Zusammensetzung 0,01 n HCl + 0,09 n KCl. Es wird eine 0,01 n HCl mit Urtitersoda unter allen

Vorsichtsmaßregeln eingestellt und dann durch Wägung die einer 0,09 n KCl-Lösung entsprechende Menge Kaliumchlorid abgemessen und in der Salzsäure gelöst. In den vorliegenden Untersuchungen wurde diese Flüssigkeit mit der Gaskettenapparatur auf ihre Wasserstoffionenkonzentration nachgeprüft; doch wird man bei sehr exakter Herstellung diese Prüfung entbehren können. Da diese Vergleichsflüssigkeit unbegrenzt haltbar ist, so kann man eine große Menge derselben in Vorrat halten, wodurch der Zeitverlust bei häufigem Herstellen und Eichen vermieden wird. Um irgendwelche Veränderungen in der Wasserstoffionenkonzentration der fertigen Vergleichselektrode etwa durch Diffusion aus der Verbindungsflüssigkeit auszuschließen, ist es empfehlenswert, die Vergleichselektrode in nicht zu langen Zeiträumen zu erneuern, was bei der Einfachheit der Füllung leicht durchzuführen ist.

Die oben geschilderte Schaltung, durch die abwechselnd die Gaskette und die Chinhydronkette mit derselben Kompensationsapparatur verbunden werden konnte, bedingte es natürlich, daß dasselbe Kapillarelektrometer benutzt wurde. Dabei zeigte sich, daß bei gleichem Abstand vom Kompensationspunkt die Ausschläge, die die Gaskette bedingte, schneller waren, als diejenigen, die die Chinhydronkette bewirkte. Die Genauigkeit der Messung wird dadurch jedoch nicht beeinträchtigt, sondern diese Erscheinung verlangt nur eine größere Aufmerksamkeit seitens des Beobachters. Zurückzuführen ist diese Erscheinung wahrscheinlich darauf, daß die Chinhydronkette einen größeren inneren Widerstand hat als die Gaskette, was wohl darauf beruht, daß in dem einen Fall platinierte Elektroden mit sehr großer Oberfläche, im anderen Falle blanke Platinelektroden mit verhältnismäßig kleiner Oberfläche Verwendung finden.

Es sind nun die mit der bezeichneten Methode gewonnenen Werte zu erörtern. Um die Brauchbarkeit der Chinhydronelektroden unter möglichst klaren und reproduzierbaren Bedingungen zu prüfen, wurden zuerst Messungen an wässerigen Elektrolytlösungen gemacht, und zwar so, daß der p_H-Wert mittels Chinhydronkette, mittels Gaskette und mittels der Indikatoren bestimmt wurde, vorausgesetzt natürlich, daß der gesuchte p_H-Wert innerhalb *des* Gebietes lag, das von den oben genannten Indikatoren umspannt wird. d. h. zwischen $p_H = 2,8$ und $p_H = 8,4$. Tabelle I gibt eine Zusammenstellung dieser Ergebnisse. Absichtlich wurde von den differierenden Werten kein einziger ausgesondert, um jede willkürliche Verschiebung des Urteils nach der günstigen Seite hin zu vermeiden. Es muß jedoch betont werden, daß bei sämtlichen Werten, die eine mangelnde Übereinstimmung zwischen Chinhydron- und Gaskettenwert zeigen, dies entweder darauf beruht, daß wir zu Beginn unserer Untersuchungen noch manche unbekannten Mängel der Apparatur oder der Methodik überhaupt auszumerzen

Tabelle I.

Vergleichende Untersuchungen an wässerigen Lösungen.

Nr.	Art der Lösung	Errechneter Wert für p_H	Indikatorenwert $p_H =$	Gaskettenwert $p_H =$	Chinhydronkettenwert $p_H =$
1	Standardlösung. 50 ccm n NaOH, 100 ccm n CH_3COOH, 350 ccm Aqua dest.	4,63	4,6	4,63	4,64
2	99 ccm Aqua dest. + 1 ccm n/5 HCl	—	2,8	2,74	2,78
3	250 „ „ „ + 1 „ n/5 HCl	—	3,2	3,19	3,19
4	Zu 3 1 ccm etwa n/10 NaOH	—	4,4	4,38	4,39
5	Destilliertes Wasser	—	5,6	5,56	5,58
6	Leitungswasser 21. VII. 1924	—	7,2—7,4	7,26	7,27
7	250 ccm Leitungswasser + 1 ccm n/10 NaOH	—	7,4—7,6	7,65	7,67
8	100 ccm Aqua dest. + 2 ccm n/10 H_2SO_4	—	3,0	2,95	3,02
9	100 ccm Aqua dest. + $^1/_2$ ccm n/10 H_2SO_4	—	3,6	3,56	3,56
10	Standardlösung (Nr. 1)	4,63	4,6	4,63	4,64
11	Leitungswasser 24. VII. 1924	—	7,2—7,4	7,34	7,35
12	100 ccm Leitungswasser + 2 ccm n/10 H_2SO_4 + 1 ccm n/10 NaOH	—	6,2	6,12	6,16
13	100 ccm Leitungswasser + 1 ccm n/10 NaOH + $^1/_2$ ccm n/10 H_2SO_4	—	7,6	7,58	7,61
14	1 proz. NaOH mit etwa 2 Teilen Leitungswasser verdünnt	—	—	13,07	14,58??
15	14 zur Hälfte mit Leitungswasser verdünnt	—	—	12,81	??
16	15 zur Hälfte mit Leitungswasser verdünnt	—	—	12,48	??
17	Standardlösung (Nr. 1)	4,63	4,6	4,63	4,64
18	Leitungswasser 7. VIII. 1924	—	7,2—7,4	7,35	7,33
19	16 mit einer beliebigen Menge Leitungswasser verdünnt	—	—	10,57	10,92??
20	19 mit Leitungswasser zur Hälfte verdünnt	—	—	9,77	9,98??
21	20 mit Leitungswasser verdünnt	—	—	9,19	9,26
22	21 „ „ „	—	—	8,86	8,93
23	Zu 21 einige Tropfen einer 1 proz. NaOH	—	—	10,98	10,47??
24	23 mit Leitungswasser verdünnt	—	—	9,89	10,37??
25	24 „ „ „	—	—	9,2	9,28
26	25 „ „ „	—	—	8,66	8,64
27	n/5 HCl mit Leitungswasser verdünnt	—	—	2,41	2,43
28	27 etwas mit Wasser verdünnt	—	2,6—2,8	2,68	2,72
29	Standardlösung (Nr. 1)	4,63	4,6	4,63	4,64
30	Destilliertes Wasser	—	5,4—5,6	5,45	5,5

hatten, oder darauf, daß sie zu weit in das alkalische Gebiet reichen, eine Erscheinung, die weiter unten genauer besprochen werden soll. Diesen Einfluß der Alkalität berücksichtigt, bleibt auch unter den ungünstigsten Bedingungen nur in einem Falle eine Differenz von 3 Millivolt. So zeigt sich auch bei den später ausgeführten sehr zahlreichen Urinuntersuchungen, bei denen wir über eine gründliche Beherrschung der Methodik verfügten, daß in keinem einzigen Falle der mit der Chinhydronkette gewonnene Wert zu dem Indikatorenwert in Widerspruch steht. Um ganz sicher zu gehen, machten wir von Zeit zu Zeit Kontrolluntersuchungen mit der oben genannten, von *Michaelis*

angegebenen Eichflüssigkeit von genau bekanntem p_H-Wert. Wie aus der Tabelle ersichtlich, stimmen sämtliche Messungen dieser Art genau miteinander überein.

Um die Genauigkeit der Mikroelektrode zu prüfen, wurden eine Anzahl Vergleichsmessungen zwischen der Makro- und der Mikroelektrode angestellt. Die Werte sind aus der Tabelle II zu ersehen.

Tabelle II.

Vergleichende Messungen zwischen Makro- und Mikrochinhydronelektrode an wässerigen Lösungen.

Nr.	Art der Lösung	Makrowert p_H =	Mikrowert p_H =
1	50 ccm n NaOH, 100 ccm CH_3COOH, 350 ccm Aqua dest.	4,64	4,62
2	Leitungswasser	7,31	7,31
3	„ + 2 ccm n/5 HCl	3,18	3,16
4	„ + 1 „ n/5 HCl	4,9	4,88
5	„ + 1 „ n/10 NaOH	8,59	8,59
6	„ + $^1/_2$ „ n/5 HCl	6,86	6,83
7	„ + $^1/_2$ „ n/10 NaOH	8,19	8,19
8	Destilliertes Wasser	5,64	5,68
9	„ „ + 1 ccm n/10 NaOH	7,78	7,78
10	Leitungswasser	7,22	7,26

Es zeigt sich, daß in etwa 50 Proz. die Übereinstimmung eine absolute ist, und daß bei den übrigen Messungen im ungünstigsten Falle eine Differenz von 2 Millivolt besteht. Auch hier aber sei betont, daß absichtlich alle ungünstigen Resultate, auch solche, die sicher durch die anfänglich mangelnde Beherrschung der Methodik bedingt waren, mit aufgeführt sind.

Tabelle III.

Grenze der Richtigkeit im alkalischen Gebiet.

Lösungen mit zunehmender Alkaleszenz	Indikatorenwert p_H =	Gaskettenwert p_H =	Chinhydronwert p_H =	Farbe der Flüssigkeit
Leitungswasser	7,2—7,4	7,34	7,35	gelblich
100 ccm Leitungswasser + 2 ccm n/10 NaOH + $^1/_2$ „ n/10 H_2SO_4	7,6	7,58	7,61	„
Urin, Tab. IV, Nr. 87	8,0	—	7,97	schnell rötlich
„ „ IV, „ 90	8,4	—	8,42	„ „
Flüssigkeit, Tab. I, Nr. 26	—	8,66	8,64	nach einigem Stehen leicht bräunlich
„ „ I „ 21	—	9,19	9,26	leicht bräunlich
„ „ I „ 25	—	9,2	9,28	„ „
„ „ I „ 20	—	9,77	9,98 (?)	ziemlich schnell bräunlich
„ „ I „ 24	—	9,89	10,37 (?)	ziemlich schnell bräunlich
„ „ I „ 19	—	10,57	10,92 (?)	schnell bräunlich
„ „ I „ 16	—	12,48	(? ?)	sofort stark braun

Aus den schon bekannten Untersuchungen über die Chinhydronelektrode ersahen wir, daß im stark alkalischen Gebiete der Chinhydronkettenwert an Gültigkeit verliert. Es wurde daher in Tabelle III eine Reihe von Messungen zusammengestellt, die schrittweise zunehmende Alkalitätsgrade betreffen.

Es zeigt sich, daß bis zu einem p_H-Wert von etwa 9,0 eine befriedigende Übereinstimmung zwischen Gasketten- und Chinhydronkettenwert vorliegt. Kommt man jedoch über diese Grenze weiter in das alkalische Gebiet hinein, so wird der Chinhydronkettenwert ziemlich rasch unbrauchbar. Der genannte Befund stimmt mit den Literaturangaben überein. Bei Lösungen hoher Alkalität war eine Änderung in der Farbe der chinhydronhaltigen Flüssigkeit zu beobachten. Während saure Lösungen sich durch Chinhydronzusatz kaum oder schwach gelblich färben, treten bei stärker alkalischen Flüssigkeiten ausgesprochen bräunliche, oder rötliche Farbtöne auf, die sich je nach der Stärke der Alkalität verschieden schnell in ihrer Farbintensität entwickeln. Dieses Parallelgehen ist so deutlich, daß man bei größerer Übung schon allein hieraus schätzungsweise auf den ungefähren p_H-Wert schließen kann. Dieses Verhalten der Farbe ist in der letzten Spalte in Tabelle III mitverzeichnet. Bedingt ist diese Erscheinung höchstwahrscheinlich dadurch, daß das Chinhydron im alkalischen Medium eine chemische Umsetzung erfährt.

In Tabelle IV sind hundert Urinmessungen zusammengestellt. Hierbei war naturgemäß eine Kontrolle des Chinhydronkettenwertes durch die Gaskette nicht möglich, da bekanntlich die Gaskette bei Urinuntersuchungen versagt, was wohl auf den Gehalt an Ammoniak zurückzuführen ist. Von um so größererm Wert ist die durch die vorliegenden Untersuchungen bewiesene ausgezeichnete Brauchbarkeit der Chinhydronkette bei allen Arten von Urinen.

Die Werte wurden kontrolliert durch Vergleich mit der Indikatorenmethode nach dem oben beschriebenen Verfahren. Es wurden aus den schon genannten Gründen immer die *beiden* p_H-Werte angegeben, zwischen denen die Wasserstoffionenkonzentration des untersuchten Urins lag, falls nicht eben eine genaue Übereinstimmung der Werte bestand. Um jede Voreingenommenheit auszuschließen, wurde immer *erst* der Wert mittels Indikatoren bestimmt. Wie Tabelle IV zeigt, besteht in allen Fällen eine Übereinstimmung zwischen dem Indikatoren- und dem Chinhydronwert, wobei natürlich zu berücksichtigen ist, daß der Chinhydronkettenwert dadurch, daß er auch die zweite Stelle hinter dem Komma angibt, bedeutend genauer ist, als der Indikatorenwert. Die gemessenen Urine umfassen ein p_H-Gebiet von 5,2 bis 8,4 und geben damit Beispiele von wohl sämtlichen, praktisch vorkommenden Wasserstoffionenkonzentrationsgraden. Bei den letzten zehn Unter-

Tabelle IV.

Vergleichende Urinuntersuchungen.

Kurze Bezeichnung des Urins	Indikatorenwert p_H =	Chinhydronkettenwert (Makro!!) p_H =	Kurze Bezeichnung des Urins	Indikatorenwert p_H =	Chinhydronkettenwert (Makro!!) p_H =	Kurze Bezeichnung des Urins	Indikatorenwert p_H =	Chinhydronkettenwert (Makro!!) p_H =	Chinhydronkettenwert (Mikro!!) p_H =
1. *Kö.*	5,2	5,18	35. *Pr.*	6,0—6,2	6,09	69. *Kö.*	7,0	7,0	—
2. *Ze.*	5,2—5,4	5,31	36. *Kl.*	6,2	6,19	70. *Kl.*	7,0	7,04	—
3. *Ma.*	5,2—5,4	5,32	37. *Bo.*	6,2	6,23	71. *Gi.*	7,0	7,02	—
4. *Sch.*	5,4	5,37	38. *Ti.*	6,2	6,17	72. *Ut.*	7,0	7,02	—
5. *Hi.*	5,4	5,42	39. *Ga.*	6,2	6,19	73. *Ti.*	7,0—7,2	7,07	—
6. *Ti.*	5,4—5,6	5,54	40. *Pi.*	6,2—6,4	6,33	74. *Chi.*	7,0—7,2	7,09	—
7. *Ku.*	5,4—5,6	5,54	41. *Ge.*	6,2—6,4	6,26	75. *Schm.*	7,2	7,23	—
8. *Ha.*	5,4—5,6	5,56	42. *Sa.*	6,2—6,4	6,26	76. *Det.*	7,2	7,21	—
9. *Ro.*	5,6	5,62	43. *Ri.*	6,2—6,4	6,35	77. *Cl.*	7,2	7,19	—
10. *Ka.*	5,6	5,59	44. *Sch.*	6,2—6,4	6,35	78. *Gr.*	7,2—7,4	7,3	—
11. *Wo.*	5,6	5,59	45. *Ma.*	6,4	6,38	79. *Ke.*	7,2—7,4	7,32	—
12. *Pe.*	5,6	5,57	46. *Ma.*	6,4	6,38	80. *Cl.*	7,4	7,38	—
13. *Ze.*	5,6	5,63	47. *Ku.*	6,4—6,6	6,47	81. *Ti.*	7,4—7,6	7,45	—
14. *Pe.*	5,6—5,8	5,75	48. *Ly.*	6,4—6,6	6,38	82. *Ka.*	7,4—7,6	7,47	—
15. *Gn.*	5,6—5,8	5,66	49. *Ka.*	6,4—6,6	6,52	83. *Ha.*	7,6	7,62	—
16. *Ke.*	5,6—5,8	5,75	50. *Pe.*	6,4—6,6	6,47	84. *Hu.*	7,8	7,77	—
17. *Ke.*	5,8	5,76	51. *Gu.*	6,4—6,6	6,45	85. *Kö.*	7,8—8,0	7,86	—
18. *Pe.*	5,8	5,77	52. *Sch.*	6,4—6,6	6,48	86. *Ma.*	7,8—8,0	7,93	—
19. *Ku.*	5,8	5,82	53. *Sch.*	6,6	6,61	87. *Gu.*	8,0	7,97	—
20. *Wa.*	5,8	5,82	54. *Ku.*	6,6	6,56	88. *Re.*	8,2	8,15	—
21. *Ry.*	5,8—6,0	5,91	55. *Yu.*	6,6	6,57	89. *Ka.*	8,2	8,23	—
22. *Sch.*	5,8—6,0	5.86	56. *Li.*	6,6	6,61	90. *Rie.*	8,4	8,42	—
23. *Bo.*	5,8—6,0	5,86	57. *Fr.*	6,6	6,58	91. *Thi.*	6,0—6.2	6,09	6,09
24. *Wa.*	5,8—6,0	5,88	58. *Pe.*	6,6	6,59	92. *Pe.*	5,6—5,8	5,75	5,71
25. *Sch.*	5,8—6,0	5,91	59. *Sch.*	6,6—6,8	6,69	93. *Sy.*	6,2	6,16	6,2
26. *Spr.*	5,8—6,0	5,92	60. *Ti.*	6,6—6,8	6,75	94. *Gu.*	6,2—6,4	6.27	6,31
27. *Ti.*	6,0	6.05	61. *Kö.*	6,8	6,83	95. *Sie.*	6,2—6,4	6,32	6,36
28. *Go.*	6,0	5,97	62. *Sch.*	6,8	6,78	96. *He.*	6,6—6,8	6,66	6,66
29. *Sch.*	6,0	6,0	63. *Ge.*	6,8—7,0	6,9	97. *Wi.*	6,8—7,0	6,86	6,86
30. *Ke.*	6,0	6,05	64. *Ku.*	6,8—7,0	6,85	98. *Gr.*	7,0—7,2	7,04	7,09
31. *He.*	6,0	5.99	65. *H.*	6,8—7,0	6,89	99. *Go.*	7,6—7,8	7,78	7,76
32. *Pa.*	6,0	5,96	66. *Schm.*	6,8—7,0	6,88	100. *Ga.*	8,0	7,97	7,97
33. *He.*	6,0—6,2	6,07	67. *Os.*	6,8—7,0	6,86				
34. *Ge.*	6,0—6,2	6,07	68. *Ti.*	7,0	6,97				

suchungen wurden auch Vergleiche mittels der Mikroelektrode angestellt, und es zeigt sich auch hier eine Übereinstimmung in dem oben geschilderten Ausmaß.

Die Untersuchungen an klinischem Material erstreckten sich ferner auf eine Anzahl Magensäfte. Die gewonnenen Werte gibt Tabelle V wieder. Auch hier werden zwei offensichtlich durch die Technik bedingte Fehler mit aufgeführt. Das Ergebnis der Untersuchungen am Magensaft bringt den Beweis, daß der Chinhydronkettenwert, und zwar sowohl bei

Tabelle V.

Vergleichende Magensaftuntersuchungen.

Nr.	Indikatorenwert $p_H =$	Gaskettenwert $p_H =$	Chinhydron-Makroelektrodenwert $p_H =$	Chinhydron-Mikroelektrodenwert $p_H =$
1	—	2,06	2,06	2,09
2	—	2,24	2,26	2,26
3	—	2,4	2,42	2,4
4	—	2,5	2,52	2,52
5	3,0	3,02	3,0	3,04
6	3,2	3,22	3,24	3,24
7	3,2—3,4	3,32	3,36	3,34
8	3,2—3,4	3,12 (?)	3,26	3,33
9	3,2—3,4	3,32	3,35	3,31
10	3,4—3,6	3,53	3,54	3,54
11	3,6	3,6	3,63	3,64
12	3,6—3,8	3,71	3,46 (?)	3,76
13	3,8	3,78	3,85	3,83
14	3,8	3,78	3,84	3,8
15	4,0—4,2	4,12	4,16	4,12
16	4,6	4,65	4,63	4,64
17	4,8	4,82	4,82	4,84
18	5,2—5,4	5,35	5,45	5,42
19	5,4	5,37	5,36	5,38
20	5,4—5,6	5,5	5,52	5,52

Benutzung der Mikro-, als auch der Makroelektrode in ausgezeichneter Übereinstimmung mit dem der Gaskette als auch mit dem der Indikatorenmethode steht.

Es fiel bei den Untersuchungen auf, daß der Zeitabstand zwischen der Lösung des Chinhydrons in der zu untersuchenden Flüssigkeit einerseits und der Messung andererseits nicht gleichgültig war. Zur Klärung dieser Erscheinung sind in Tabelle VI eine Anzahl Messungen zusammengestellt, bei denen der Gaskettenwert anfänglich alle 5 Minuten, später in etwas größeren Zeitabständen kontrolliert wurde — aufgeführt sind in der Tabelle nur die Zeiten 5, 15 und 90 Minuten nach der Füllung —, während der Chinhydronkettenwert zum ersten Male 2 Minuten nach der Füllung und dann alle 5 Minuten festgelegt wurde. Als endgültiger p_H-Wert für die Gaskette ist in Spalte 4 der nach 90 Minuten abgelesene Wert verzeichnet, während als endgültiger Wert der Chinhydronkette in Spalte 6 der nach 2 Minuten gemessene Wert aufgeführt ist. Es wird nämlich bei einem Vergleich zwischen den zu verschiedenen Zeiten gemessenen Chinhydronkettenwerten ersichtlich, daß der möglichst schnell nach der Füllung gemessene Wert der richtige ist, und zwar trifft dies besonders für das alkalische Gebiet zu. Während im sauren Gebiete 15 Minuten nach der Füllung die gemessene Millivoltzahl die gleiche ist, wie 2 Minuten nach der Füllung, zeigt sich im alkalischen Gebiete eine ganz beträchtliche Differenz zwischen den ersten und den

Tabelle VI.

Einfluß der Zeit.

Nr.	Art der untersuchten Lösung	Gaskettenwert in Millivolt 5 Min. nach Füllung der Elektrode	Gaskettenwert in Millivolt 15 Min. nach Füllung der Elektrode	Gaskettenwert in Millivolt 90 Min. nach Füllung der Elektrode	Gaskettenwert Endgültiger p_H-Wert	Chinhydronkettenwert in Millivolt 2 Min. nach Füllung der Elektrode	Chinhydronkettenwert Endgültiger p_H-Wert	Chinhydronkettenwert in Millivolt 15 Min. nach Füllung der Elektrode
1.	99 ccm Aqua dest. + 1 ccm n/5 HCl . . .	125	146	150	2,74	43	2,78	43
2.	n/5 HCl mit Leitungswasser verdünnt . .	125	146	146	2,68	40	2,72	40
3.	100 ccm Aqua dest. + 2 ccm n/10 H_2SO_4 .	161	169	171	2,95	57	3,02	57
4.	Magensaft, Tab. V, Nr. 5	161	—	175	3,02	58	3,04	62
5.	„ „ V, „ 7	181	—	192	3,32	76	3,36	74
6.	100 ccm Aqua dest. + 1/2 ccm n/10 H_2SO_4	200	206	207	3,56	80	3,56	82
7.	Magensaft, Tab. V, Nr. 15	189	—	239	4,12	123	4,12	123
8.	Standardlösung, Tab. I, Nr. 1	190	255	268	4,63	151	4,64	151
9.	Destilliertes Wasser	290	315	316	5,45	201	5,5	201
10.	Urin, Tab. IV, Nr. 56	—	—	—	—	265	6,61	270
11.	Leitungswasser	410	434	435	7,5	319	7,54	324
12.	100 ccm Leitungswasser + 1 ccm n/10 NaOH + 1/2 ccm n/10 H_2SO_4	430	440	440	7,58	323	7,61	323
13.	Urin, Tab. IV, Nr. 83	—	—	—	—	324	7,62	334
14.	„ „ IV. „ 100	—	—	—	—	344	7,97	352
15.	„ „ IV, „ 88	—	—	—	—	355	8,15	390
16.	n/10 NaOH mit Leitungswasser verdünnt	452	458	461	8,13	354	8,14	367
17.	Flüssigkeit, Tab. I, Nr. 26	374	503	503	8,66	378	8,64	378
18.	„ „ I, „ 22	482	511	513	8,86	400	8,93	412
19.	„ „ I, „ 21	436	529	533	9,19	420	9,26	429
20.	1 proz. NaOH mit Leitungswasser verdünnt	542	550	551	9,5	435	9,54	459

folgenden Messungen. Diese Beobachtung paßt gut in die oben ausgesprochene Annahme, daß das Chinhydron im alkalischen Medium sich chemisch umsetzt. Wird aber der Chinhydronkettenwert möglichst schnell nach der Füllung ermittelt, so besteht die im obigen belegte, durchaus befriedigende Übereinstimmung zu den mit anderen Meßverfahren erhobenen Befunden.

An letzter Stelle seien Messungen am Liquor zerebrospinalis aufgeführt. Da nur in seltenen Fällen bei einer Lumbalpunktion soviel Liquor gewonnen wird, daß außer den klinisch notwendigen Untersuchungsmethoden auch noch p_H-Messungen mittels Indikatoren, mittels Gaskette und mittels Chinhydronkette, letzteres auch noch in der Makro- und in der Mikroelektrode, ausgeführt werden können, so beschränkt sich das vorliegende Material, das in Tabelle VII wiedergegeben ist, auf drei Fälle.

Tabelle VII.

Vergleichende Liquoruntersuchungen.

Nr.	Indikatorenwert $p_H =$	Gaskettenwert $p_H =$	Chinhydronwert (Makro!) $p_H =$	Chinhydronwert (Mikro!) $p_H =$
1	8,0	8,02	7,98	7,98
2	7,6—7,8	—	7,74	7,71
3	7,6—7,8	7,72	7,72	7,73

Selbstverständlich konnten die vorliegenden Messungen am Liquor zerebrospinalis nicht zu absoluten Werten führen, denn, wie *Kl. Meier* gezeigt hat, spielt auch beim Liquor die freie Kohlensäure für die aktuelle Reaktion eine wichtige Rolle. Als vergleichende Untersuchungen jedoch machen sie die gute Brauchbarkeit der Chinhydronkette auch beim Liquor zerebrospinalis deutlich.

Auf Grund der mitgeteilten Ergebnisse lassen sich eine Anzahl Vorteile der neuen Methode speziell für klinische Zwecke ableiten. Die ganze Apparatur ist außerordentlich einfach sowohl in ihrer Konstruktion wie in der Handhabung. Das bedingt eine Verminderung der Fehlerquellen, wie sie bei der Gaskette z. B. durch den Wasserstoff und seine Darstellung, oder durch die recht empfindliche Kalomelvergleichselektrode gegeben sind. Bei der Chinhydronkette ist die Bedienung sowohl der Vergleichselektrode als auch der unbekannten Elektrode so einfach, daß die genannte Methode für Massenuntersuchungen wie geschaffen erscheint und vom Hilfspersonal ausgeführt werden kann. Ferner wird sich im klinischen Betriebe die Schnelligkeit, mit der sich Füllung und Messung ausführen lassen, besonders angenehm bemerkbar machen. Eine Gesamtversuchsdauer von etwa vier Minuten, die bei der Chinhydronkettenmessung den Durchschnitt darstellt, wird bei der Messung mittels Gaskette auch unter den günstigsten Bedingungen um

ein Vielfaches überschritten. Eine weitere, gerade für den Kliniker wertvolle Annehmlichkeit ist die Verwendungsmöglichkeit einer Mikroelektrode von fast beliebig kleinem Fassungsvermögen und dabei einfachster Konstruktion. Der in vorliegender Arbeit ausprobierte und beschriebene Verschluß der Mikroelektrode mittels Gummischlauch ermöglicht die Verkleinerung des Elektrodengefäßes bis zu einem Fassungsvermögen von wenigen Tropfen. Die wichtigste Bereicherung der klinischen Laboratoriumsmethodik liegt jedoch darin, daß man mittels der Chinhydronkette Urine potentiometrisch auf ihre aktuelle Reaktion untersuchen kann. Bisher war man fast ausschließlich auf die Indikatorenmethode angewiesen, die mit Hilfe der fertigen Standardröhrchen der Firma Leitz zwar nicht mehr Zeit in Anspruch nimmt wie die Chinhydronkettenmessung, aber um ein Vielfaches ungenauer und weniger objektiv ist. Es ist daher anzunehmen, daß die Messung der aktuellen Reaktion einer Flüssigkeit mittels Chinhydronkette sich als einen Fortschritt für die klinische Laboratoriumstechnik erweisen wird, trotzdem ihr auch ein Nachteil gegenüber der Gaskette anhaftet. Gemeint ist die beschränkte Brauchbarkeit im stark alkalischen Gebiet, wie überhaupt die Notwendigkeit, im alkalischen Gebiet die Messung in kurzer Zeit durchzuführen. Der Fehler im Alkalischen liegt jedoch so weit jenseits derjenigen Werte, wie sie im allgemeinen für klinische Arbeiten in Frage kommen, daß dadurch kaum eine Beschränkung der Verwendbarkeit der Chinhydronmethode bedingt sein wird.

Zusammenfassung.

1. Die Vorarbeiten, die Theorie und die Methodik der p_H-Messung mittels Chinhydronkette sprechen für eine klinische Verwendbarkeit der Methode.

2. An wässerigen Elektrolytlösungen wird die gute Übereinstimmung zwischen Chinhydronkettenwert einerseits und Gasketten- und Indikatorenwert andererseits gezeigt.

3. Die Chinhydronkette läßt sich zur potentiometrischen Bestimmung der aktuellen Reaktion beim Magensaft, beim Liquor zerebrospinalis und vor allen Dingen beim Urin verwenden.

4. Die Chinhydronkette erlaubt die Benutzung einer Mikroelektrode von sehr geringem Fassungsvermögen.

Vorliegende Untersuchungen wurden mit Unterstützung der Rockefeller-Stiftung ausgeführt, der auch an dieser Stelle gedankt sei.

Literatur.

F. Haber und *R. Russ*, Zeitschr. f. physik. Chem. **47**, 305, 1904. — *E. Biilmann*, Ann. de Chim. **15**, 109, 1921; Ref. Chem. Zentralbl. **1921**, **III**.

1009. — *E. Biilmann* und *H. Lund*, Ann. de Chim. (9) **16**, 321, 1921; Ref. Chem. Zentralbl. **1922**, I, 603. — *S. P. L. Sörensen*, *Margarethe Sörensen* und *K. Linderström-Lang*, Ann. d. Chim. (9) **16**, 283, 1921; Ref. Chem. Zentralbl. **1922**, I, 602. — *F. S. Granger* und *J. M. Nelson*, Journ. Amer. Chem. Soc. **43**, 1401, 1921; Ref. Chem. Zentralbl. **1922**, I, 741. — *St. Veibel*, Journ. Chem. Soc. London **123**, 2203, 1923; Ref. Chem. Zentralbl. **1923**, III, 1430. — *H. R. Christensen* und *S. T. Jensen*, Intern. Mitt. f. Bodenkunde **14**, 1, 1924. — *M. Trénel*, ebendaselbst **14**, 27, 1924. — *L. Michaelis*, Deutsche med. Wochenschr. 1921, S. 465. — *Klothilde Meier*, diese Zeitschr. **124**, 137, 1921.

Wie ist die Stellung der Polarisation in der physiko-chemischen Theorie der elektrischen Nervenreizung aufzufassen?

Von

Louis Lapicque.

(Aus dem Laboratorium für allgemeine Physiologie an der Sorbonne, Paris.)

(Eingegangen am 31. Dezember 1924.)

Übertragen von *H. Rosenberg* (Berlin).

Um die Jahrhundertwende hat *Nernst* der physiko-chemischen Erforschung der elektrischen Reizung einen bedeutenden, aber in gewisser Hinsicht auch störenden Anstoß erteilt, indem er den Satz aufstellte, daß die Polarisation das Grundphänomen bei der elektrischen Reizung sein müßte. Er ging dabei von ganz allgemeinen Vorstellungen über die zellige Struktur aus und wählte gemäß seiner physikalischen Einstellung das nächstliegende geometrische Schema. Um relativ einfache Ansätze für die Integration zu erhalten, nahm er einen zylindrisch geformten elektrolytischen Leiter an, der durch transversale Scheidewände in rechtwinklige Abschnitte geteilt ist. Die Polarisation an diesen Membranen behandelte er mathematisch, indem er einerseits die Stromwirkung, andererseits die Diffusion, welche die durch den Strom angehäuften Ionen (oder Salze) zu zerstreuen strebt, als algebraische Summanden in Rechnung setzte. Der Muskel ließe vielleicht die Elemente dieses Schemas erkennen; das wichtigste Objekt ist hier jedoch der Nerv. Ich frage mich, wie es möglich war, daß jene Physiologen, die sich der *Nernst*schen Theorie der elektrischen Reizung angeschlossen haben, den Elektrotonus vollständig vergessen konnten, der doch die Grundlage einer experimentell fest gestützten Theorie bildet, die zu weiterer Ausgestaltung auffordert. Wir hätten uns erinnern müssen, daß der nervöse Achsenzylinder sich nicht entsprechend transversalen Scheidewänden, die nicht vorhanden sind, sondern entsprechend einer longitudinalen zylindrischen Oberfläche polarisiert. Hierauf beruht die Konzeption des Kernleiters, die vor etwa 75 Jahren von *Matteucci* begründet und bis zum Ausgang des 19. Jahrhunderts von einer Reihe hervorragender Physiologen weiter verfolgt wurde. In neuerer Zeit haben *Cremer* (1) und seine Schüler diese Tradition erfolgreich fortgesetzt, zu der alle, die sie zu Unrecht

verlassen haben, zurückkehren sollten. Ich selbst beschritt erst mehrere Jahre später den durch *Nernst* eröffneten Weg, nachdem mich gewisse experimentelle Ergebnisse meiner ausgezeichneten Schüler *Cardot* und *Laugier* (2) auf diese eigentümliche Polarisation geführt hatten, die sich als Elektrotonus kundtut. Aber meine Untersuchungen in dieser Richtung wurden durch den Krieg unterbrochen, der zu allem übrigen Unheil auch die wissenschaftliche Arbeit untergrub und eine beklagenswerte Kluft zwischen den Gelehrten verschiedener Nationen aufriß; ich hatte noch nichts veröffentlicht und habe diese Untersuchungen erst seit kurzem wieder aufgenommen.

Wird ein Nerv bipolar gereizt, so beeinflußt, wie *Cardot* und *Laugier* zeigten, der gegenseitige Abstand der beiden Elektroden die zwei Parameter der Erregbarkeit, und zwar sowohl die Rheobase, d. h. die Schwelle für langdauernde Ströme (eine exakte Bestätigung alter Erfahrungen), als auch die Chronaxie, d. h. die ausnutzbare Durchströmungszeit. Sobald der Elektrodenabstand unter 1 cm sinkt, wird mit Annäherung der Elektroden die Rheobase größer, die Chronaxie kleiner.

Es ist leicht einzusehen, daß es sich um das wechselseitige Ergebnis der gegensinnigen Polarisationen handelt, die sich an den beiden Elektroden abspielen. *A. V. Hill* hat diesen Vorgang mathematisch bearbeitet (3). In seinem Reizungsschema, das vom *Nernst*schen abgeleitet ist, betrachtet er zwei parallele Membranen, die sich nicht mehr wie bei *Nernst* in unendlichem Abstand voneinander befinden, sondern einander gerade so weit genähert sind, daß sich die beiderseitigen Ionenanhäufungen infolge Diffusion eben in der Mitte treffen. Aus den Formeln ergibt sich: Je enger die Membranen zusammenrücken, um so geringer wird die Polarisation (folglich Zunahme der Rheobase) und um so kürzer ist die Zeit, innerhalb welcher das Phänomen seine obere Grenze erreicht (daher Abnahme der Chronaxie). Wie groß muß, falls eine Diffusion im üblichen Sinne vorausgesetzt wird, was wohl der *Nernst*schen Annahme entspricht, der Abstand der Membranen sein, damit ein derartiger Effekt in der kurzen Zeitspanne merklich wird, in der der ganze Erregungsprozeß verläuft? Die Größe dieser Zeit ist bekannt: Für den Ischiadicus des Frosches und für die rasch reagierenden Nerven im allgemeinen handelt es sich um tausendstel Sekunden. In rein wässerigen Lösungen hat der Diffusionskoeffizient eine Größenordnung von 10^{-6} cm/sec; im Achsenzylinder, einem sehr wasserreichen, aber viskösen Gewebe von gallertähnlicher Beschaffenheit, kann die Diffusion nicht rascher vor sich gehen, in der Markscheide ist sie wahrscheinlich noch langsamer. Für solche Chronaxiewerte und Diffusionsgeschwindigkeiten berechnet sich der Abstand auf tausendstel Millimeter.

Diese Größenordnung würde für zelluläre Gebilde sehr befriedigend sein. Aber derartige Diskontinuitäten bestehen, wie erwähnt, nicht in der Längsrichtung des Achsenzylinders.

Ich dachte anfänglich an die *Frommann*schen Streifen, die beim Eindringen von Silbernitrat von den *Ranvier*schen Einschnürungen her in den Nervenfasern durch periodische Fällungen entstehen. Doch handelt es sich hierbei um ein Kunstprodukt, denn die *Frommann*schen Streifen werden lediglich durch die besonderen Diffusionsbedingungen veranlaßt, wie dies auch für die bekannten *Liesegang*schen Ringe zutrifft. Diese sind keinesfalls an vorgebildete Strukturdifferenzen der Gelatine geknüpft, und ebensowenig sind die *Frommann*schen Streifen der Ausdruck einer periodischen Struktur der Achsenzylinder. Soll der elektrische Strom eine Erregung setzen, so muß er den Nerven der Länge nach durchlaufen: bei schrägem Auftreffen reduziert sich seine Wirksamkeit proportional dem Kosinus des Winkels, den er mit dem Nerven bildet, und bei Querdurchströmung, so weit sich diese verwirklichen läßt, schwindet die Wirksamkeit vollständig. Trotzdem realisiert eben dieser letzte Fall ein dem *Nernst*schen oder *Hill*schen verwandtes geometrisches Schema: eine Reihe von polarisierbaren Scheidewänden in Zellabstand, die von einem Strome durchquert werden. Tatsächlich erhält man zwar auf diese Weise die stärkste Polarisation, das Maximum der gegenelektromotorischen Kraft, aber keinerlei Erregung.

Legt man jedoch den elektrischen Strom in der Längsrichtung des Nerven oder allgemein eines Kernleiters an, so breitet sich die Polarisation sehr rasch aus. Der elektrische Strom wendet sich auf dem kürzesten Wege zum Kern, der besser leitet als die Hülle, wird aber bei seinem Durchgang von der Polarisation aufgehalten, die er unter der Elektrode hervorruft; nunmehr breitet er sich ein wenig seitlich aus, um erneut den Kern zu erreichen, den er auf diese Weise Schritt für Schritt polarisiert, indem er sich entlang der von ihm selbst geschaffenen Polarisationsgrenze weiterschiebt. Dieser Vorgang erfolgt mit weit größerer Geschwindigkeit als die Diffusion. Verfolgen wir nun diese Erscheinung zunächst an einem toten Modell nach der Art des Platindrahtes von *Matteucci* und seiner Nachfolger, so ist die Polarisation nicht unmittelbar wahrzunehmen, sondern nur auf elektrischem Wege zu verfolgen. Anders verhält sich der nachstehend beschriebene Kernleiter.

Ein langer horizontal gelagerter Trog von der Form eines halben Zylindermantels von mehreren Zentimetern Durchmesser (z. B. ein dickes, in der Längsrichtung halbiertes und an den Enden mit Wachs verschlossenes Glasrohr) wird mit stark schwefelsauer gemachtem Wasser und mit Quecksilber beschickt. Das Metall verteilt sich in

Form eines mehr oder minder elliptischen Bandes am Boden des Gefäßes unter der Säure. Nunmehr werden an den Enden des Troges zwei Platindrähte als Elektroden in die Säure getaucht (sie dürfen das Quecksilber nicht berühren) und mit einem Potential von einigen Volt verbunden. Dann sieht man an jeder Elektrode die Entstehung und Ausbreitung der Polarisation, die sich durch eine Schicht von Gasblasen bzw. eine Oxydschicht an der Oberfläche des Quecksilbers zu erkennen gibt. Gleichzeitig erblickt man eine mechanische Veränderung, auf die es mir hier in erster Linie ankommt. Auf Grund des bekannten, beim Kapillarelektrometer benutzten Verhaltens, daß die Oberflächenspannung sich beim Stromdurchgang verändert, zieht sich das Quecksilber vor der Anode zusammen und dehnt sich vor der Kathode aus. Bei einer bestimmten, nicht zu starken Spannung erhält man für eine kurze, etwa eine Sekunde währende Zeit eine stabile Deformation.

Diese Erscheinung gibt ein recht gutes Bild des Elektrotonus. Man kann sogar einige Analogien zu den Beziehungen zwischen Elektrotonus und Erregbarkeit feststellen. Diese Beziehungen wurden von *Pflüger* in einem klassischen Werke sichergestellt, haben in den allzu vernachlässigten Arbeiten *v. Bezolds* (4) und *v. Brückes* (5) eine genauere Ausgestaltung erfahren und weisen die Richtung, zu der wir meines Erachtens die physiko-chemische Theorie der Reizung gegenwärtig hinführen müssen.

Wenn die Deformation des Quecksilbers unter der Elektrode durch einen plötzlichen kräftigen Stromstoß mit genügender Schnelligkeit erzeugt wird, so bewirkt die Entstehung dieser Deformation eine echte mechanische Welle, die sich längs des Quecksilberbandes fortpflanzt, wie an der Oberfläche eines stillen Wassers, in das ein Stein geworfen wird. Allerdings erleidet diese Welle eine rasche Dämpfung und erlischt allmählich, nachdem sie eine Strecke von etwa 10 cm durchlaufen hat. Nichtsdestoweniger ist sie ein überraschendes Bild der nervösen Welle, die nur beim Schließen des Stromes entsteht, nicht aber während des Fließens des konstanten Stromes auftritt.

Die Analogie kann sogar in Einzelheiten verfolgt werden. Läßt man nämlich die Potentialdifferenz langsam zu demselben Werte wie vorher ansteigen, so entwickelt sich die Deformation des Quecksilbers allmählich, und zwar schrittweise mit dem Anwachsen der gegenelektromotorischen Kraft, aber man sieht keine sich ausbreitende Welle. Das Ergebnis bedarf keiner Erläuterung. Schickt man andererseits durch diesen Leiter mit flüssigem Metallkern Ströme von begrenzter, mehr oder weniger kurzer Dauer, so sieht man, daß die Intensität, die zur Erzeugung einer sich fortpflanzenden Welle erforderlich ist, mit der Verkürzung der Stromstöße wächst; man findet also analoge Verhältnisse wie bei der Nervenreizung.

Zur Vermeidung von Mißverständnissen möchte ich hier bemerken: Ich war und bin kein Anhänger der Ansicht *Sutherlands* (6), der die Leitung des nervösen Impulses tatsächlich auf einen mechanischen Prozeß, nämlich auf eine elastische Rückwirkung des Achsenzylinders zurückführt. Dagegen verdanken wir neuerdings *R. Lillie* ein Modell, das dem Wesen des nervösen Leitungsvorgangs erheblich näher kommt. Wird ein polarisierter Eisendraht an einer Stelle in geeigneter Weise depolarisiert, so wandert, wie *Lillie* gezeigt hat, eine Welle zeitweiliger Depolarisation von dem Reizpunkt ausgehend über ihn hin. Kürzlich ist es *M. Monnier* (7) in meinem Laboratorium gelungen, das *Lillie*sche Modell elektrisch zu reizen und dieselben Beziehungen zwischen Dauer und Intensität der Stromstöße zu finden wie bei der physiologischen Reizung oder bei Reizung des Quecksilberkernleiters.

Ich glaube, daß das letztgenannte Modell in seinen mechanischen Äußerungen den elektrischen Vorgängen am Nerven gesetzmäßig entspricht; aber die mechanischen Erscheinungen sind eindrucksvoller, da wir auf Beobachtung von Bewegungen eingestellt sind. An Hand dieser Vorstellungen kommen wir auf den Elektrotonus des Nerven zurück und wenden uns zunächst der Frage zu, die uns auf das Problem hingelenkt hat: Kann der Elektrotonus bei Berücksichtigung der gegebenen zeitlichen und räumlichen Bedingungen die Veränderungen der Erregbarkeit bei verschiedenem Elektrodenabstand erklären? Mit anderen Worten: Kann der Anelektrotonus bei einer interpolaren Strecke von Zentimeterlänge dem Katelektrotonus innerhalb einer Zeit von der Größenordnung einer tausendstel Sekunde begegnen? Die Physiologen werden diese Frage wohl übereinstimmend bejahen. Für alle Nervenlängen, die bei den Versuchen praktisch vorkommen, breitet sich der Elektrotonus von einem zum anderen Ende für unsere Beobachtung augenblicklich aus. So beweist das bekannte Phänomen der paradoxen Kontraktion — die Erregung benachbarter Nervenfasern bei Etablierung des Elektrotonus in Fasern einer Nervenverzweigung —, daß diese Etablierung sehr schnell vor sich geht; wenn sie auch nur einige hundertstel Sekunden dauerte, würde keine wirksame Reizung erfolgen. Über den genauen Betrag dieser Geschwindigkeit finden sich sehr wenige fundierte Angaben, die sich zudem widersprechen. Wahrscheinlich ist diese Geschwindigkeit von der Stärke des polarisierenden Stromes und von der Gesamtheit der elektrischen Bedingungen in weitem Umfange abhängig; es würde sich demnach nicht um eine Geschwindigkeit im gewöhnlichen Sinne handeln, die durch die in der Zeiteinheit durchlaufene Strecke eindeutig gekennzeichnet ist. Vielleicht ließe sich die Fortpflanzung des Elektrotonus analog der Diffusion durch eine Formel ausdrücken, in der die Zeit der Ausbreitung dem Quadrat der Entfernung proportional ist.

Einige vorläufige Versuche, die ich mit *Laugier* (8) angestellt habe, haben für den Einfluß des Elektrodenabstandes bei der Reizung ein derartiges Gesetz gezeigt. Beispielsweise macht sich am Froschischiadicus die Störung bei einem Stromstoß von $^{3}/_{1000}$ Sekunden Dauer bis zu 15 mm interpolarer Distanz bemerkbar; bei $^{0,5}/_{1000}$ Sekunden erscheint die störende Wirkung kaum bei 7,5 mm. Bei einer Verdopplung des Abstandes verhalten sich also die Zeiten wie 1 : 6. Diese ersten Daten sind nicht genau genug, um die Form des Gesetzes oder gar die numerischen Werte seiner Parameter erkennen zu lassen. Wir erhalten vorläufig nur eine Größenordnung, und zwar folgende: Die obigen Versuche würden mit einer Polarisation zusammenstimmen, die sich nach der Quadratwurzel aus der Zeit verbreitet und 5 cm in einer Viertelsekunde zu durchlaufen vermag. Es scheint mir sehr passend, für den nervösen Elektrotonus eine solche Geschwindigkeit anzunehmen; sie ist eine Million mal größer als die der Diffusion.

Zusammenfassung.

In der Theorie der elektrischen Nervenreizung muß die als Elektrotonus bezeichnete besondere Art der Polarisation berücksichtigt werden.

Abgesehen davon, daß die von *Nernst* angenommenen transversalen Scheidewände sich auf der Bahn des elektrischen Stromes nicht finden, wenn die Stromfäden, wie es zur wirksamen Reizung notwendig ist, den Nerven longitudinal durchsetzen, könnten solche Membranen den Einfluß des Elektrodenabstands auf die Erregbarkeit nicht erklären.

Die Geschwindigkeit der Ausbreitung des Elektrotonus, so unsicher sie gegenwärtig bekannt sein mag, ist der Größenordnung nach vereinbar mit diesen Beobachtungen; die Diffusion, wie sie *Nernst* annahm, ist eine Million mal zu langsam.

Es wird ein Kernleiter mit Quecksilberkern beschrieben, der ein mechanisches Abbild der elektrischen Bedingungen gibt, unter denen eine Welle entsteht, die sich von dem Ursprungsort des Elektrotonus fortpflanzt.

Literatur.

1) *M. Cremer*, Nagels Hdb. der Physol. **4**, 904 ff., Braunschweig 1909. — 2) *Cardot* und *Laugier*, C. r. de la soc. de Biol. **76**, 539, **77**, 655, 1914. — 3) *A. V. Hill*, Journ. of Physiol. **40**, 1910. — 4) *von Bezold*, Untersuchungen über die elektrische Erregung der Nerven und Muskeln. Leipzig 1861. — 5) *von Brücke*, Sitzungsber. d. Akad. d. Wissensch. Wien. Math.-naturw. Kl., 2. Abtl., **58**, 1868. — 6) *Sutherland*, Amer. Journ. of Physiol. 1905, 1906, 1908. — 7) *M. Monnier*, Ann. d. Phys. et de Physico-chimie biol., 1. Jahrg., Heft 1, Januar 1925. — 8) *Lapicque* und *Laugier*, Journ. d. Physiol. et Path. gen. 1921.

Erfahrungen bei der Auswertung von Insulinpräparaten.

Von

Paul Hári.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut der k. ungarischen Universität Budapest.)

(Eingegangen am 6. Januar 1925.)

Das Problem, das dem Untersucher eines Insulinpräparats aufgegeben wird und durch das biologische Experiment gelöst werden soll, kann verschiedener Art sein. Einmal soll festgestellt werden, wie weit der Blutzuckerspiegel von Kaninchen durch eine bestimmte Menge des Präparats herabgesetzt wird; ein anderes Mal soll die Dosis ermittelt werden, die einem 2 kg schweren Kaninchen eingespritzt werden muß, um seinen Blutzuckerspiegel auf 0,045 Proz. herabzusetzen. Für beide Probleme liegt es selbstverständlich am nächsten, die erwartete Veränderung der Blutzuckerkonzentration durch die Analyse zu ermitteln; an Stelle dieser recht minutiösen Arbeit wurde aber auch vorgeschlagen, sich an die bekannten hypoglykämischen Krämpfe zu halten, die das Absinken des Blutzuckerspiegels unter ein gewisses Niveau ohne jedwede Analyse erkennen lassen sollen.

In nachstehendem soll über die Erfahrungen berichtet werden, die ich bei der Untersuchung von 56 Insulinpräparaten in 138 Kaninchenversuchen gemacht habe. Diese Erfahrungen werfen ein grelles Streiflicht auf die Schwierigkeiten, denen man bei derlei Untersuchungen begegnet, liefern auch Hinweise auf die Richtung, von der jene Schwierigkeiten herstammen, leider aber keine Vorschläge, wie man sie beheben könnte.

Die Präparate, die mir zur Untersuchung übergeben wurden, entstammten den hierortigen chemischen Fabriken „Chinoin" A.-G. und Gedeon Richter, A.-G.; sie kamen mit Ausnahme eines einzigen Falles, in dem ich die Lösung aus dem Trockenpräparat herstellen mußte, als fertige Lösungen zur Untersuchung.

A. Auswertung durch Bestimmung der Blutzuckerkonzentration.

Bezüglich der Methodik sei folgendes erwähnt. An jedem Kaninchen wurde die Blutzuckerkonzentration vor und 3 Stunden nach der Insulineinspritzung bestimmt. Die erste Bestimmung wurde ausgeführt, nachdem den Tieren die Nahrung 15 bis 24 Stunden vorher entzogen ward (die Verschiedenheit der Karenzdauer bezieht sich selbstredend nur auf verschiedene Versuchsreihen; innerhalb einer Versuchsreihe hungerten die Tiere immer gleich lange). Die zu den Bestimmungen nötige Blutmenge habe ich einer kleinen Wunde entnommen, die mit einem scharfen Messer an der äußeren Oberfläche des Ohres gesetzt wurde. Oft war es nötig, die Haut mit einem in Xylol betauchten Wattebausch zu betupfen; infolge der sofort einsetzenden starken Hyperämie lieferte nun auch die kleinste Wunde genügend Blut, und zwar auch an hypoglykämischen Tieren, von denen sonst häufig kein Tropfen Blut aus dem Ohre zu bekommen ist.

Zwar habe ich jedesmal die letzten Spuren etwa anhaftenden Xylols vor der Blutentnahme sorgfältig weggewischt; doch zog ich es vorsichtshalber vor, den Schnitt immer mehrere Zentimeter weit von der mit Xylol betupften Stelle zu führen. Der Erfolg ward hierdurch nicht gefährdet, da die Hyperämie nicht auf die betupfte Stelle beschränkt bleibt, sondern stets sich über die ganze Oberfläche des Ohres ausbreitet.

Die Blutproben wurden mittels der *Ernst* und *Weiss*schen[1]) Pipetten abgemessen, und ich kann nicht umhin, diese äußerst einfache und bequeme Methode angelegentlichst zu empfehlen. Stets wurden an jedem Kaninchen sowohl zu den Blindbestimmungen, wie auch am Blute selbst, mindestens drei, sehr häufig auch vier Parallelversuche ausgeführt, und wurde im übrigen streng nach der letzten *Bang*schen[2]) Vorschrift verfahren. Unmittelbar nach der ersten Blutentnahme wurde dem Kaninchen das berechnete Volumen der Insulinlösung unter die Haut gespritzt, 3 Stunden später wieder Blut entnommen und wie oben analysiert.

Handelt es sich darum, die Wirkung einer bestimmten Dosis zu ermitteln, so gelingt es zuweilen schon, das Problem durch zwei Kaninchenversuche zu lösen; dies ist der Fall, wenn man zwei so vorzüglich übereinstimmende Werte erhält, wie in Versuchsreihe 1 und 2 (Tabelle I). Zur Not wird man sich für gewisse Zwecke auch dann mit zwei Versuchen begnügen können, wenn sie wenigstens, wie in Versuchsreihe 3, sicher erkennen lassen, daß das Präparat wirksam

---

[1]) *Z. Ernst* und *St. Weiss*, Wien. klin. Wochenschr. Nr. 15, 1921.

[2]) *Ivar Bang*, Mikromethoden zur Blutuntersuchung, 3. Auflage. J. F. Bergmann, 1922.

ist, indem die erwünschte Senkung des Blutzuckerspiegels in einem der beiden Versuche angenähert, im anderen aber vollkommen erreicht wurde. Leider wird man aber, wenn bloß zwei Kaninchenversuche ausgeführt werden, sehr oft entweder eine sehr mangelhafte Übereinstimmung oder gar einen völligen Widerspruch zwischen den beiden Versuchsergebnissen finden, indem die Wirkung an einem Tiere kaum merkbar, am anderen aber weit stärker ausfällt, als erwartet werden konnte, trotzdem beide Tiere, auf die Einheit des Körpergewichts bezogen, dieselbe Insulinmenge erhielten. Dies war in Versuchsreihe 4 und 5 (Tabelle I) der Fall.

Tabelle I.

Versuchsreihe	Präparat Nr.	Datum des Versuchs	Nummer des Tieres	Körpergewicht kg	Vorher gehungert Stdn.	Insulin erhalten pro 1 kg ccm	Blutzuckerkonzentration vorher Proz.	Blutzuckerkonzentration 3 Stdn. nachher Proz.	Ergebnisse der beiden Versuche
1	R.*) 62 . .	28. XI. 1923	18	1,72	16	0,085	0,113	0,061	gut übereinstimmend
			21	2,31	16	0,085	0,095	0,060	
2	Ch.**) 297	1. VIII. 1923	braun	2,60	24	0,25	0,133	0,035	gut übereinstimmend
			schwarz	2,24	24	0,25	0,117	0,036	
3	R. 86 . . .	14. VI. 1923	24	1,90	16	0,13	0,101	0,061	leidlich übereinstimmend
			20	2,70	16	0,13	0,145	0,040	
4	R. 69a . .	17. XII. 1923	17	2,30	18	0,15	0,096	0,089	nicht übereinstimmend
			13	1,52	18	0,15	0,128	0,036	
5	Ch. 400 . .	13. XI. 1923	braun, groß	2,62	24	0,25	0,130	0,096	nicht übereinstimmend
			braun, klein	2,09	24	0,25	0,107	0,053	
6	R. 92 . . .	24. I. 1924	braun, groß	3,12	15	0,095	0,106	0,067	leidlich übereinstimmend
			braun, klein	2,05	15	0,120	0,085	0,038	
7	R. 61 . . .	22. XI. 1923	13	2,55	15	0,135	0,098	0,043	gut übereinstimmend
			17	2,25	15	0,110	0,095	0,047	
8	R. 84 . . .	8. I. 1924	24	1,90	17	0,130	0,112	0,043	widersprechend
			schwarz	1,42	17	0,175	0,093	0,060	
9	R. 55 . . .	13. XI. 1923	13	2,35	16	0,105	0,119	0,035	widersprechend
			17	2,15	16	0,160	0,127	0,085	

*) R = Fabrikat der Gedeon Richter A.-G. — **) Ch = Fabrikat der „Chinoin" A.-G.

Handelt es sich um das zweiterwähnte Problem, nämlich die Dosis festzustellen, durch die der Blutzuckerspiegel eines 2 kg schweren Kaninchens auf 0,045 Proz. herabgesetzt wird, so kommt man zuweilen auch hier mit zwei Kaninchen aus, denen, wie in Versuchsreihe 6 und 7 (Tabelle I) verschiedene Mengen Insulin eingespritzt werden; in Versuchsreihe 6 lag die richtige Dosis des Präparats zwischen 0,095 und 0,120 (näher zu 0,120) ccm pro 1 kg, in Versuchsreihe 7 aber zwischen 0,110 und 0,135 ccm.

Sehr häufig wird sich aber ergeben, daß gerade an demjenigen von zwei Kaninchen, das die größere Dosis erhielt, der Blutzuckerspiegel weniger stark absinkt; dies war in den Versuchsreihen 8 und 9 (Tabelle I) der Fall.

Sucht man nach der Ursache dieser Unstimmigkeiten, so sind Analysenfehler, an die man zunächst denken könnte, in meinen Versuchen ausgeschlossen, da ich, wie erwähnt, nie weniger als drei bzw. vier Parallelbestimmungen ausgeführt habe. *Die wirkliche Ursache liegt an den Versuchstieren selbst, unter denen sich häufig abnorm empfindliche* (bzw. wahrscheinlich auch refraktäre) *Exemplare finden.* [Mangels an entsprechenden Tieren konnte ich zwar dem von *Penan* und *Simonnet*[1]) und dann von *Rigler*[2]) aufgestellten Postulat, durchweg bloß 2 kg schwere Kaninchen und nicht etwa solche von verschiedenem Gewicht zu verwenden, deren Insulingaben man pro 2 kg Körpergewicht berechnet, nicht gerecht werden; es konnte aber, wie auch aus meinen Tabellen I, III und IV ersichtlich, für die von *Rigler* behauptete Abnahme der Empfindlichkeit mit steigendem Körpergewicht kein Anhaltspunkt gewonnen werden.] Eine Überempfindlichkeit abnormen Grades war zweifellos an Kaninchen 20 vorhanden, das, ehe ich auf diese seine Eigenschaft aufmerksam geworden bin, die Ursache zum Mißlingen einer ganzen Reihe von Auswertungsversuchen abgegeben hatte. In Tabelle II sind einige Versuchspaare zusammengestellt, in denen einerseits stets Kaninchen 20, andererseits ein anderes Tier verwendet wurde, und zwar mit dem Erfolg, daß an Kaninchen 20 der Blutzuckerspiegel durch dieselbe Dosis auf ein tieferes Niveau bzw. durch eine geringere Dosis auf dasselbe Niveau herabgedrückt wurde, wie am anderen Tiere. Allerdings könnte es, da Kaninchen 20 in jeder der zwischen 20. Dezember 1923 und 28. Januar 1924 ausgeführten, in Tabelle II zusammengestellten Versuchsreihen, die anderen Tiere aber bloß in je einer bzw. zwei Versuchsreihen figurieren, den Anschein haben, daß die Überempfindlichkeit des besagten Tieres bloß durch die wiederholten Insulineinspritzungen verursacht ward. Demgegenüber ist erstens zu bemerken, daß die insulinfreien Intervalle an Kaninchen 20 nicht weniger als 6, 8, 11 und 14 Tage betrugen [von *Wiechowski*[3]) werden 10, von *Penan* und *Simonnet*[4]) 6 bis 8 freie Tage gefordert, *Clough*, *Allen* und *Root*[5]) gestatten zwei Injektionen pro

[1]) *H. Penan* et *K. Simonnet*, Journ. de pharm. et de chim. **28**, 385, 1923; zitiert in Ber. über d. ges. Physiol. **24**, 344.

[2]) *R. Rigler*, Klin. Wochenschr. 1924, Jahrg. 3, S. 1246.

[3]) *W. Wiechowski*, ebendaselbst, S. 1382.

[4]) l. c.

[5]) *H. D. Clough*, *R. S. Allen* und *E. W. Root*, Amer. Journ. of Physiol. **66**, 461, 1923; zitiert nach Ber. über d. ges. Physiol. **26**, 469.

Woche]; andererseits, daß an den anderen Tieren ebenso häufig Versuche ausgeführt wurden, die jedoch in Tabelle II, da diese nur Versuchspaare enthält, in denen jedesmal auch Kaninchen 20 figuriert, nicht aufgenommen wurden.

Tabelle II.

Versuchsreihe	Präparat Nr.	Datum des Versuchs	Nr. des Tieres	Körpergewicht kg	Vorher gehungert Std.	Insulin erhalten pro 1 kg ccm	Blutzuckerkonzentration vorher Proz.	Blutzuckerkonzentration 3 Std. nachher Proz.
10	R. 76 .	26. XII. 1923	17	2,19	16	0,23	0,119	0,037
			20	3,19	16	0,16	0,109	0,006
11	R. 86 .	14. I. 1924	24	1,90	16	0,26	0,101	0,061
			20	2,70	16	0,26	0,145	0,040
12	R. 95 .	28. I. 1924	17	2,17	15	0,28	0,093	0,075
			20	2,77	15	0,29	0,112	0,015
13	R. 73 .	20. XII. 1924	14	2,02	16	0,25	0,113	0,050
			20	3,30	16	0,18	0,144	0,053
14	R. 81 .	3. I. 1924	21	2,05	15	0,30	0,089	0,028
			20	3,10	15	0,19	0,092	0,028

Nach alledem darf es wohl als begründet erscheinen, wenn ich konform dem Postulat von *Penan* und *Simonnet* und von *Clough, Allen* und *Roost*, auch meinerseits das *Postulat* aufstelle, *für derlei Untersuchungen nicht zwei, sondern drei oder noch besser vier Kaninchen zu verwenden.* In Tabelle III sind die Ergebnisse solcher an je drei Kaninchen ausgeführten Versuchsreihen zusammengestellt. In Versuchsreihe 15 war die gesuchte Dosis zwischen 0,09 und 0,13, näher zu 0,13 ccm pro 1 kg, in Versuchsreihe 16 genau bei 0,11, in Versuchsreihe 17 zwischen 0,55 und 0,65, in Versuchsreihe 18 zwischen 0,075 und 0,010, näher zu 0,10 gelegen. Die Überempfindlichkeit des Kaninchens 20 konnte hier nur wenig stören, da ich es in zwei von den drei Versuchsreihen, in denen es mit zur Verwendung kam, absichtlich mit der kleinsten Dosis bedacht hatte.

Allerdings hat man auch, wenn man an drei oder gar vier Kaninchen arbeitet, nicht immer unbedingte Gewähr für das Erlangen eindeutiger Resultate, sei es, daß die Wirksamkeit einer Dosis überhaupt, sei es, daß die Größe der Dosis festgestellt werden soll, durch die der Blutzuckerspiegel auf das vorgeschriebene Niveau herabgedrückt wird. Ersteres wurde in Versuchsreihe 19, letzteres in Versuchsreihe 20 bezweckt; ihre Ergebnisse sind in Tabelle IV zusammengestellt. In Versuchsreihe 19 hatte eine und dieselbe, auf 1 kg Körpergewicht berechnete Dosis an jedem der vier Kaninchen eine verschiedene Wirkung; in Versuchsreihe 20 aber zeigte sich die schwächste Wirkung

Tabelle III.

Versuchsreihe	Präparat Nr.	Datum des Versuchs	Nr. des Tieres	Körpergewicht kg	Vorher gehungert Std.	Insulin erhalten pro 1 kg ccm	Blutzuckerkonzentration vorher Proz.	Blutzuckerkonzentration 3 Std. nachher Proz.
15	R. 38 .	11. II. 1924	9	3,30	15	0,06	0,136	0,086
			11	1,66	16	0,09	?	0,061
			10	2,70	15	0,13	0,078	0,040
16	R. 108 .	23. II. 1924	31	1,91	17	0,075	0,087	0,053
			17	2,01	17	0,10	0,082	0,048
			20	2,69	17	0,11	0,103	0,046
17	R. 129 .	29. III. 1924	20	2,67	15	0,37	0,130	0,079
			33	1,86	15	0,55	0,117	0,073
			30	1,52	15	0,65	0,104	0,031
18	R. 141 .	23. IV. 1924	20	2,66	16	0,075	0,092	0,079
			weiß	1,49	16	0,10	0,080	0,038
			30	1,31	16	0,155	0,074	0,019

Tabelle IV.

Versuchsreihe	Präparat Nr.	Datum des Versuchs	Nr. des Tieres	Körpergewicht kg	Vorher gehungert Std.	Insulin erhalten pro 1 kg ccm	Blutzuckerkonzentration vorher Proz.	Blutzuckerkonzentration 3 Std. nachher Proz.
19	Ch. 400	15. XI. 1924	weiß	1,89	23	0,325	0,086	0,070
		20. XI. 1924	15	2,12	23	0,325	0,093	0,054
		20. XI. 1924	5	2,20	23	0,325	0,090	0,044
		15. XI. 1924	bunt	2,41	23	0,325	0,087	0,034
20	R. 119	6. III. 1924	20	2,67	15	0,075	0,102	0,043
			31	1,87	15	0,105	0,124	0,052
			30	1,80	16	0,140	0,111	0,067

an demjenigen Tiere, das die größte Dosis, die stärkste Wirkung an demjenigen, das die kleinste Dosis eingespritzt erhielt (allerdings war letzteres wieder das überempfindliche Kaninchen 20 gewesen).

Es bleibt in solchen allerdings selten vorkommenden unliebsamen Fällen nichts anderes übrig, als die Untersuchung an weiteren zwei bis drei Kaninchen fortzusetzen.

B. Auswertung durch Beobachtung der hypoglykämischen Krämpfe.

Voranstehend wurde gezeigt, wie schwierig es unter Umständen ist, die eingangs erwähnten Probleme durch Bestimmung der Blutzuckerkonzentration zu lösen. Leider steht uns aber eine bessere Methode zurzeit nicht zur Verfügung; denn wie nachstehend gezeigt werden soll und unter anderem auch von *Putter*[1]) hervorgehoben wurde, kommt

[1]) *Erich Putter,* Klin. Wochenschr. 1924, Jahrg. 3, S. 2239.

Tabelle V.

Blutzuckerkonzentration 3 Stunden nach der Injektion Proz.	Anzahl der Fälle, in denen diese Konzentration beobachtet wurde	Anzahl der Fälle, in denen Krämpfe auftraten	Blutzuckerkonzentration 3 Stunden nach der Injektion Proz.	Anzahl der Fälle, in denen diese Konzentration beobachtet wurde	Anzahl der Fälle, in denen Krämpfe auftraten
0,135	1	0	0,060	2	0
0,128	1	0	0,059	3	0
0,127	1	0	0,058	1	1
0,124	1	0	0,055	2	0
0,113	2	0	0,054	4	1
0,111	1	0	0,053	5	1
0,109	2	0	0,052	2	1
0,106	1	0	0,050	4	0
0,102	1	0	0,049	1	0
0,100	1	0	0,048	2	2
0,098	1	0	0,047	1	1
0,096	2	0	0,046	3	2
0,095	1	0	0,045	1	0
0,093	1	0	0,044	1	0
0,092	2	0	0,043	5	3
0,091	1	0	0,042	1	1
0,089	2	0	0,040	3	2
0,088	2	0	0,039	2	1
0,087	1	0	0,038	4	2
0,086	1	0	0,037	2	2
0,085	3	1	0,036	3	3
0,084	1	0	0,035	3	3
0,083	1	0	0,034	3	2
0,082	1	0	0,032	2	1
0,079	3	0	0,031	5	2
0,076	2	0	0,030	2	2
0,075	1	0	0,029	1	1
0,073	3	0	0,028	2	0
0,072	2	0	0,025	1	1
0,070	3	0	0,021	1	1
0,069	3	0	0,020	2	1
0,068	1	0	0,019	1	1
0,067	2	0	0,015	1	1
0,066	2	0	0,010	1	1
0,063	1	1	0,006	1	0
0,062	1	0	0	1	1
0,061	3	1			

man noch weniger sicher zum Ziele, wenn man, wie dies jüngst auch *Depisch*, *Högler* und *Überrack*[1]) empfehlen, sich bei der Auswertung eines Insulinpräparates an das Auftreten der bekannten Krämpfe hält. In Tabelle V sind die Ergebnisse der Blutzuckerbestimmungen 3 Stunden nach der Insulineinspritzung in allen 138 Kaninchenversuchen zusammengestellt, die ich überhaupt ausgeführt habe, also auch in denjenigen Versuchen, in denen das betreffende Präparat oder die angewendete Dosis unwirksam geblieben war. Die Versuche sind nach

[1]) *F. Depisch*, *H. Högler* und *R. Überrack*, Klin. Wochenschr. 1924, Jahrg. 3, S. 619.

abnehmender Konzentration des Blutzuckers geordnet und bei jeder Konzentration die Anzahl der beobachteten Fälle, sowie auch der Fälle angegeben, in denen es bei der betreffenden Konzentration zum Auftreten von Krämpfen kam, ohne Rücksicht darauf, ob es starke oder schwache Krämpfe waren. Präparat und Menge des eingespritzten Insulins sind hier nicht berücksichtigt.

Teilt man, wie dies in nachstehender Tabelle VI geschehen, alle Fälle in zehn Gruppen ein, in denen die Blutzuckerkonzentration um je 0,10 Proz. abnimmt, so läßt sich der Zusammenhang zwischen Blutzuckerkonzentration und Krämpfen genauer überblicken.

Tabelle VI.

Blutzuckerkonzentration Proz.	Anzahl der Fälle, in denen diese Konzentration beobachtet wurde	Anzahl der Fälle, in denen bei dieser Konzentration vor oder nach Ablauf von 3 Std. Krämpfe auftraten	Dasselbe Proz.
0,135—0,100	12	0	0
0,099—0,090	8	0	0
0,089—0,080	12	1	[8]
0,079—0,070	14	0	0
0,069—0,060	15	2	13
0,059—0,050	21	4	19
0,049—0,040	18	11	61
0,039—0,030	26	18	62
0,029—0,020	7	4	57
0,019—0,010	3	3	[100]
< 0,009	2	1	[50]

Aus Tabelle VI ist einerseits die längst bekannte Tatsache ersichtlich, daß die Krämpfe nur unterhalb eines bestimmten Blutzuckerniveaus eintreten, andererseits aber auch, daß parallel der von Gruppe zu Gruppe abnehmenden Blutzuckerkonzentration die Fälle, in denen es zu den Krämpfen gekommen war, rasch zunehmen. Es fragt sich nun, inwieweit man obige Zahlen für die Zwecke der Insulinauswertung wird nutzbar machen können?

Selbstverständlich wird man den einzigen Fall der Gruppe 0,089 bis 0,080 (wie den einzigen ähnlichen Fall von *Putter*), in dem *Krämpfe auftraten*, desgleichen auch den einzigen Fall, in dem unterhalb einer Blutzuckerkonzentration von 0,009 Proz. die *Krämpfe ausgeblieben waren*, als Ausnahmefälle unberücksichtigt lassen müssen. Jedoch nicht etwa aus dem Grunde, daß hier vielleicht Analysenfehler vorlägen, denn in beiden Fällen wurden, wie in allen übrigen, drei voneinander unabhängige Parallelbestimmungen ausgeführt, und im ersten Falle die vorzüglich übereinstimmendenWerte 0,0848, 0,0844 und 0,0854, im zweiten die ebensogut übereinstimmenden Werte 0,006, 0,008 und 0,004 erhalten (bei den bekannten Fehlergrenzen der Blutzucker-

bestimmung hätte ich im zweiten Falle getrost angeben können: „Zucker fehlt"). Die Berechnung von Prozentwerten hat in solchen Fällen keinerlei Berechtigung; bezüglich der Gruppe 0,089 bis 0,080 aus dem Grunde, weil in der nächst unteren Gruppe 0,079 bis 0,070 kein einziger Fall mit Krämpfen vorkommt; bezüglich der Gruppe $<$ 0,009, desgleichen auch 0,019 bis 0,010 aus dem Grunde, weil beide bloß je zwei bzw. drei Fälle enthalten. Um anzudeuten, daß ich auf die soeben angeführten Prozentwerte kein Gewicht lege, habe ich sie in Tabelle VI zwischen Klammern gesetzt.

Um so wichtiger sind für uns die drei Gruppen mit den Blutzuckerkonzentrationen 0,049 bis 0,040, 0,039 bis 0,030 und 0,029 bis 0,020 Proz., die (namentlich die beiden erstgenannten) Versuche in genügender Anzahl enthalten. *In den beiden erstgenannten Gruppen sind bloß etwas über 60 Proz. der Fälle durch* das Auftreten von Krämpfen ausgezeichnet, welcher Befund mit dem *Putter*schen, wonach 65 Proz. seiner Tiere aus der Gruppe 0,048 bis 0,042 und 56 Proz. seiner Tiere aus der Gruppe 0,039 bis 0,028 Krämpfe hatten, auffallend gut übereinstimmt. Allerdings sei auf den übrigen sattsam bekannten Umstand nachdrücklichst hingewiesen, daß solchen aus einer nicht überragend großen Zahl von Versuchen berechneten Prozentzahlen kein absoluter, sondern bloß orientierender Wert zukommt; denn durch eine geringe Verschiebung bei der Aufstellung der zehn Gruppen in Tabelle VI würden sich ergeben

für Gruppe 0,050—0,041 (statt 0,049—0,040). . . 47 Proz. (statt 61)
„ „ 0,040—0,031 („ 0,039—0,030). . . 67 „ („ 62)
„ „ 0,030—0,021 („ 0,029—0,020). . . 72 „ („ 57)

Auch für den *Wiechowski*schen[1]) Befund, wonach die hypoglykämischen Krämpfe nicht wie nach den amerikanischen Autoren bei einem Blutzuckerspiegel von 0,045, sondern von 0,026 Proz. auftreten, findet sich eine beruhigende Erklärung in dem aus meiner Tabelle VI hervorgehenden Umstande, wonach bezüglich der Häufigkeit im Auftreten der Krämpfe kein Unterschied zwischen den Gruppen 0,049 bis 0,040 und 0,039 bis 0,030 einerseits, und 0,029 bis 0,020 andererseits besteht.

Aus den beiden Daten der Tabelle VI läßt sich für die Praxis der Insulinauswertung folgende Regel ableiten. *Führt man*, wie die amerikanischen Autoren, *die Versuche in sehr großer Zahl*, oder wie *Laqueur*[2]) es tut, an über 30 Kaninchen *aus, so kann man von einer Insulindosis pro 1 kg Tier, die in über 60* Proz. *der Fälle Krämpfe erzeugt hat, annehmen, daß sie eine Senkung des Blutzuckerspiegels bis auf 0,049* bis *0,020 erzeugt hat*; *daß sie also die gesuchte wirksame Dosis darstelle.*

[1]) l. c.
[2]) *Ernst Laqueur*, Klin. Wochenschr. 1924, Jahrg. 3, S. 440.

auch wenn keine Blutzuckerbestimmungen vorgenommen wurden. Stehen einem aber nur so viel Kaninchen bzw. so viel Zeit zur Verfügung, daß nicht mehr als drei bis vier Parallelversuche ausgeführt werden können, so ist auf das Auftreten von Krämpfen als Maßstab der Wirksamkeit einer Insulindosis gar kein Verlaß. In solchen Fällen wird man der Blutzuckerbestimmungen nicht entraten können, womit natürlich nicht gesagt ist, daß auf diese Weise keinerlei Schwierigkeiten in der Beurteilung der Wirksamkeit eines Insulinspräparats sich ergeben können. Woraus diese Schwierigkeiten bestehen, wurde im Absatz A gezeigt.

C. Über die Ursachen der Unregelmäßigkeit im Auftreten der hypoglykämischen Krämpfe.

Durch gewisse Umstände sehen sich manche Autoren veranlaßt, den Zusammenhang zwischen Hypoglykämie und den Krämpfen, der früher als fest erachtet wurde, in Zweifel zu ziehen. Es ist ja recht auffallend, daß, wie *Lax* und *Petényi*[1]) gefunden haben, Intoxikationserscheinungen mit der Hypoglykämie nur einhergehen, wenn letztere durch Insulin verursacht ward, nicht aber, wenn sie anderen Ursprungs ist. Auch sind die beiden von mir beobachteten und S. 93 besprochenen Fälle (Auftreten von Krämpfen bei einer Blutzuckerkonzentration von 0,085 Proz. und Fehlen der Krämpfe bei einer Blutzuckerkonzentration von 0,006 Proz.) sehr merkwürdig. Andererseits ist aber der beinahe ununterbrochene Parallelismus zwischen sinkendem Blutzuckerspiegel und der zunehmenden Häufigkeit der Krämpfe, wie er aus Tabelle VI ersichtlich, viel zu auffallend, als daß ich mir den Ausspruch von *Bornstein* und *Holm*[2]) von einer „. . . hochgradigen Unabhängigkeit der Vergiftung von der Höhe des Blutzuckers . . .“, welchem Ausspruch auch *Putter* beipflichtet, zu eigen machen könnte. Zunächst ist es auch von anderen pathologischen und physiologischen Wirkungen bekannt, daß sie, wenn der sie auslösende Reiz in aller Stärke angewendet wird, in 100 Proz. der Fälle, bei Verwendung schwächerer Reize aber in abnehmender Häufigkeit in Erscheinung treten können. Werden durch einen Reiz zwei (oder mehrere) verschiedene Wirkungen ausgelöst, wie ja dies häufig der Fall ist, so können durch den stärksten Reiz in 100 Proz. der Fälle beide Wirkungen gezeitigt werden; durch einen schwächeren Reiz aber in einem Teile der Fälle die eine, im anderen Teile der Fälle die andere Wirkung. Auch ist bekannt, daß an manchen Tierarten, wie an Kaninchen, die Krämpfe

---

[1]) *Heinrich Lax* und *G. Petényi*, Klin. Wochenschr. 1924, Jahrg. 3, S. 678.

[2]) *A. Bornstein* und *Kurt Holm*, Deutsch. med. Wochenschr. 1924, Nr. 16, S. 503.

leicht, an anderen überhaupt nicht ausgelöst werden können. Ferner auch, daß an einer und derselben Tierart, z. B. nach *Fraser*[1]) an der Maus, die Empfindlichkeit gegen Insulin eine verschiedene ist, je nachdem das Tier mit Hafer allein oder aber mit Hafer und Rüben vorgefüttert wurde.

Aus allen diesen Gründen halte ich es vorläufig als nicht angängig, das Insulin, wie dies von mancher Seite geschehen ist, als aus zwei verschieden wirkenden Komponenten bestehend anzusehen, deren eine den Blutzuckerspiegel herabsetzen, die andere aber die Krämpfe erzeugen würde. Vielmehr glaube ich, daß es sich bald um individuelle Unterschiede handelt, die, wie dies bezüglich der Blutzuckerkonzenzentration von *Wiechowski* betont und von mir an Kaninchen 20 gezeigt wurde, eine konstante Eigenschaft eines solchen Tierindividuums darstellen, bald um Unterschiede, die unter anderem auch von der vorangehenden Ernährungsart bedingt sind.

---

[1]) *Donald T. Fraser*, Journ. of lab. a. clin. med. 8, 425, 1923; zitiert nach Ber. über d. ges. Physiol. 21, 58.

Über die Steigerung der kolloidalen Quellung durch chemische Stimulationsmittel.

Von

Methodi Popoff und Kyril Seisoff (Sofia, Bulgarien).

(Aus dem biologischen Institut Sofia und dem physiologischen Institut der Tierärztlichen Hochschule Berlin.)

(Eingegangen am 17. Januar 1925.)

Die Untersuchungen von *Wöhler*, *Bechhold*, *Ziegler*, *Zsigmondy* haben gezeigt, daß die Kolloidstoffe im Gegensatz zu den Kristalloiden, sich selbst überlassen, Veränderungen eingehen, welche von den obengenannten Forschern als Alterserscheinungen bezeichnet wurden. So hat z. B. die kolloidale Siliciumsäure gleich nach der Gewinnung die Fähigkeit, durch organische Membranen zu dialysieren, welche Fähigkeit sie aber nach einigen Tagen wieder verliert. Die Ursache dieser Erscheinung ist darin zu suchen, daß sich die polymeren Moleküle der Siliciumsäure in größeren Molekularkomplexen zusammenschließen; dieser Prozeß führt schließlich zu einer Präzipitation der Siliciumsäure, mit anderen Worten, die Siliciumsäure geht vom metastabilen Zustand in den stabilen über. Dieselbe Erscheinung ist auch bei vielen anderen kolloidalen Lösungen zu beobachten, wie z. B. beim Arsensulfid, bei kolloidalem Golde, welch letzteres manchmal erst nach Jahren präzipitiert. Alles dies zeigt, daß bei langem Stehen, beim Altern, die kolloidalen Lösungen von der dispersen in die stabile Phase übergehen.

Dieselbe Erscheinung des Alterns zeigen auch die kolloidalen Gelees (*Bechhold*). Sie vermindern mit der Zeit ihre Elastizität, werden optisch unhomogen, trüben sich und verlieren allmählich ihre Diffundierungseigenschaften. So z. B. ist die schnell erstarrte Gelatine anfangs leicht für die kristalloiden Lösungen durchlässig, mit der Zeit aber verliert sie diese Eigenschaft und die Diffundierung der Kristalloide wird erschwert.

Eines der wichtigsten Merkmale des Alterns der kolloidalen Gelees aber ist, daß sie mit der Zeit, auch unter den denkbar günstigsten Bedingungen gehalten, entquellen. Diese Eigenschaft der Kolloide

ist besonders wichtig in biologischer Beziehung, und zwar deshalb, weil die lebende Materie als kolloidale Substanz mit der Zeit aus rein inneren Ursachen und molekularen Umwandlungen die Fähigkeit verliert, das Lösungswasser in demselben Quantum wie zuvor zu binden: auch die lebende Materie ist Entquellungsprozessen ausgesetzt und unterworfen (*Bechhold*). Der Gehalt an Lösungswasser ist aber von außerordentlich großer Bedeutung für die Lebensprozesse, dieselben werden in dem Maße vermindert, als die Entquellung der lebenden Materie fortschreitet, und wenn die Entquellung eine gewisse Grenze überschritten hat, so hören auch die Lebensprozesse auf, die Lebenserscheinungen treten in den Zustand von Vita minima ein.

Ein Beispiel für diesen letzten Fall sind die Pflanzensamen, welche infolge der starken Entquellung so lange im Zustand der Vita minima verharren, bis ihnen durch nachträgliche Wasseraufnahme die Möglichkeit zu aktivem Leben geschaffen wird. Es ist auch bekannt, daß der menschliche Embryo im dritten Monat des intrauterinen Lebens 94 Proz. Wasser enthält; schon bei der Geburt enthalten die Zellen des Kindes aber, durchschnittlich genommen, nur 66 bis 69 Proz. Wasser, um bei dem erwachsenen Menschen durchschnittlich auf 58 Proz. herabzusinken. Die runden Formen des Kindes werden durch die fortschreitende physiologische Entquellung, welche eines der Hauptmerkmale des Alterns des Organismus ist, durch die runzeligen, schlaffen Körperformen des alternden Menschen ersetzt. Dieselben Erscheinungen von organischer Entquellung sind auch im Pflanzenreich zu beobachten. Die frischen wasserreichen Zellen der jungen Pflanzen werden mit der Zeit, mit dem Herannahen des physiologischen Lebensendes der Pflanzen wasserärmer. Das Plasma, die lebende Substanz, verliert mit dem Altern die Fähigkeit, die ursprüngliche Wassermenge zu binden und zu behalten und ist nicht mehr imstande, die durch Entquellung verloren gegangene Wassermenge auch unter den günstigsten Bedingungen wieder auszugleichen.

Die Herabsetzung der Lebensfunktionen geht Hand in Hand mit der Entquellung der lebenden Substanz. Und diese bis zum individuellen Lebensende währende Entquellung hat den Charakter eines irreversiblen Prozesses.

Die Feststellung dieser Tatsache ist von grundlegender Bedeutung für die Frage des physiologischen Alterns. Gleichzeitig löst dieser Tatbestand die Frage aus, ob es nicht möglich sein würde, durch irgendwelche äußere Eingriffe diesen scheinbar irreversibel ablaufenden Prozeß aufzuhalten, die verlorengehende Fähigkeit der lebenden Materie, zu quellen, wieder zu erhöhen und folglich auch den Lebenserscheinungen einen neuen energischeren Anstoß zu verleihen.

Also steht die Frage nach der Erforschung der Bedingungen, welche die Quellungsfähigkeit der kolloidalen Substanz bedingen und beherrschen, im Mittelpunkt der Frage der Hebung der Lebensfunktionen und folglich auch der Frage nach der Möglichkeit, die Alterserscheinungen zeitlich zu unterbrechen und die Lebensprozesse des alternden Individuums zu heben.

Nun hat *M. Popoff*, auch auf frühere Arbeiten gestützt, gezeigt, daß es experimentell möglich ist, durch Einwirkung von verschiedenen chemischen und physikalischen Agenzien, die er unter dem Namen von Zellstimulantien zusammenfaßte, die Lebensfunktionen der lebenden Zellen in hohem Maße zu beschleunigen und zu heben. Besonders stark ist der Effekt dieser stimulierenden Einwirkung dann, wenn sie auf embryonale Zellen angewandt wird. Es war deshalb von großem, sowohl theoretischem, wie auch praktischem Interesse, nachzuprüfen, ob die Lebensfunktionen hebende Wirkung der Stimulationsagenzien auch mit einer Hebung der Quellungsfähigkeit der lebenden Substanz einhergeht, ob mit anderen Worten, die Stimulationsmittel die Fähigkeit haben, Quellungserscheinungen der lebenden Substanz im günstigen Sinne zu beeinflussen und umzuändern.

Um diese wichtige Frage nachzuprüfen, haben wir Versuche unternommen, und zwar vorerst nur mit Gelatinelösungen. Wir wollten feststellen, ob die chemischen Stimulationsmittel (s. die Arbeit: *Popoff*, Zellstimulantien und ihre theoretische Begründung. Zellstimulationsforschungen, Heft 1 u. 2) imstande sind, die Wasseraufnahme der Gelatine umzuändern und zu heben. Wie die nachfolgenden Protokollberichte unserer Versuche zeigen werden, ist es uns gelungen, diese Frage bejahend zu beantworten.

I. Für alle unsere Versuche haben wir reine Gelatine in Blattform benutzt.

Es wurden in der ersten Versuchsserie je 1,25 g Gelatine in gleich große Gläser getan und in 50 ccm der jeweiligen Stimulationslösung aufgelöst. Als Kontrolle diente dieselbe Gelatinemenge, aufgelöst in destilliertem Wasser.

Es wurden auf diese Weise die Lösungen von Formaldehyd, Phthalsäure, Salicylsäure, Salol, Chinasäure, Vanilinsäure, Glycerin, Magnesium- und Mangansalzen usw. untersucht. Die Versuchsgläser wurden mit Deckeln, versehen mit Gummirand, zugemacht und im Thermostaten von 40° C gehalten. Nach Auflösung der Gelatine, was einige Stunden dauerte, wurden die Gläser aus dem Thermostaten herausgenommen und zum Erstarren der Gelatine bei Zimmertemperatur von etwa 12° C gelassen. Es zeigte sich, daß in allen Versuchs- und Kontrollgläsern die Lösungen gelierten. Daraufhin wurden in allen Gläsern je 25 ccm Wasser zugefügt und wieder in den Thermo-

staten getan. Nach abermaligem Verbleiben von einigen Stunden in demselben wurden alle Gläser aus dem Thermostaten herausgenommen, bei Zimmertemperatur erkalten gelassen und der Gelierungsgrad wieder festgestellt. Es zeigte sich dabei, daß eine starke, kompakte gute Gelierung bei 1 prom. Formaldehyd, 1 prom. Phthalsäure und 1 prom. Salicylsäure stattgefunden hatte. Eine Halbgelierung war bei 1 prom. Salol, 1 prom. Chinasäure, 1 prom. Glycerin und 1 prom. Vanilinsäure eingetreten. Die Wasserkontrollen dagegen blieben flüssig. Dasselbe Verfahren des Zusetzens von Wasser in die Gläser, jetzt aber von je 10 ccm, wurde noch einigemal wiederholt. Das Aufhören der Gelierung ist der Tabelle I zu entnehmen.

Tabelle I.

1.	50 ccm	destilliertes Wasser + 1,25 g Gelatine	++++	starke Gelierung
	+ 25 „	destilliertes Wasser	—	keine feste Gelierung
2.	50 ccm	1 prom. Formaldehyd + 1,25 g Gelatine	++++	starke Gelierung
	+ 25 „	Wasser	++++	
	+ 10 „	„	++++	
	+ 10 „	„	+++	gute Gelierung
	+ 10 „	„	—	keine feste Gelierung
3.	50 ccm	1 prom. Salicylsäure + 1,25 g Gelatine	++++	starke Gelierung
	+ 25 „	Wasser	++++	
	+ 10 „	„	++++	
	+ 10 „	„	+++	
	+ 10 „	„	—	keine feste Gelierung
4.	50 ccm	1 prom. Phthalsäure + 1,25 g Gelatine	++++	
	+ 25 „	Wasser	++++	
	+ 10 „	„	+++	
	+ 10 „	„	—	keine feste Gelierung
5.	50 ccm	1 prom. Salol + 1,25 g Gelatine	++++	
	+ 25 „	Wasser	++	halb geliert
	+ 10 „	„	—	keine feste Gelierung

6. 1 prom. Chinasäure. Dieselben Gelierungsgrade wie bei Salol.
7. 1 prom. Glycerin. Dieselben Gelierungsgrade wie bei Salol.

Bei den nachfolgenden Stimulantien wurde die optimale Konzentration für die Gelierung festzustellen gesucht:

50 ccm	5 prom.	$MgCl_2$	+ 1 g Gelatine	++++	starke Gelierung
50 „	15 „	„	+ 1 g „	++++	
50 „	30 „	„	+ 1 g „	+++	
50 ccm	1 prom.	KCl	+ 1 g Gelatine	++++	
50 „	5 „	„	+ 1 g „	+++(+)	
50 „	10 „	„	+ 1 g „	+++(+)	
50 „	15 „	„	+ 1 g „	+++	

Tabelle I. (Fortsetzung.)

				Nach 30 Std.
50 ccm 2 prom. Tannin	+ 1 g Gelatine .		+	
50 „ 0,5 „ „	+ 1 g „ .		—	
50 „ 0,25 „ „	+ 1 g „ .		++++	
50 „ 5 „ $MgCl_2$	+ 1 g Gelatine	+ 10 ccm Wasser	++(+)	
		+ 5 „ „	+	++
50 „ 15 „ „	+ 1 g „	+ 10 „ „	+++	
		+ 10 „ „	+	++
50 „ 30 „ „	+ 1 g „	+ 10 „ „	++	
		+ 5 „ „	—	+
50 „ 1 „ KCl	+ 1 g „	+ 10 „ „	+++	
		+ 5 „ „	+	++
50 „ 5 „ „	+ 1 g „	+ 10 „ „	+++	
		+ 5 „ „	(+)	+(+)
50 „ 10 „ „	+ 1 g „	+ 10 „ „	++(+)	
		+ 5 „ „	±	+(+)
50 „ 15 „ „	+ 1 g „	+ 10 „ „	+++	
		+ 5 „ „	+	++
50 ccm 0,20 prom. Tannin	+ 1 g Gelatine	+ 10 ccm Wasser	+++	
50 „ 0,25 „ Tannin	+ 1 g Gelatine	+ 10 ccm Wasser	++++	
50 „ 0,5 proz. Tannin	+ 1 g Gelatine	+ 10 ccm Wasser	+++	
50 ccm 5 prom. $MgSO_4$	+ 1 g Gelatine	+ 10 ccm Wasser	+++	
50 „ 15 „ „	+ 1 g „	+ 10 „ „	+++(+)	
50 „ 30 „ „	+ 1 g „	+ 10 „ „	++(+)	
50 ccm Wasser	+ 1 g Gelatine		+++	
50 „ „	+ 1 g „	+ 10 ccm Wasser . . .	+	

Aus diesen und anderen ähnlichen Versuchen ist zu ersehen, daß sich für $MgCl_2$ und $MgSO_4$ die optimale Lösungskonzentration für die Gelierungsprozesse zwischen 5 bis 15 Prom., für KCl zwischen 1 und 15 Prom. und für das Tannin um 0,25 Prom. befindet.

Die nach dieser Versuchsanordnung erzielten Resultate beweisen außerdem, daß die Lösungen von Formaldehyd, Phthalsäure, Salicylsäure, $MgCl_2$, $MgSO_4$, KCl, Tannin ein Plus von Wasser, das manchmal über 15 ccm steigt, aufzunehmen imstande sind.

II. Dasselbe Resultat wurde auch bei der folgenden Versuchsanordnung festgestellt. Es wurde eine 2 proz. Gelatinelösung in destilliertem Wasser hergestellt und von derselben je 30 ccm in die Versuchsgläser getan. In jedes Versuchsglas wurden dann der Reihe nach je 30 ccm der Stimulationslösungen zugesetzt. Nach Herausnahme aus dem Thermostaten zeigten die Versuchsserien, in Zimmertemperatur gelassen, einen verschieden starken Grad von Gelierung.

Tabelle II.

Kontrolle: 30 ccm Gelee + 30 ccm Wasser, — keine Gelierung.

	Lösung		Ergebnis
30 ccm Gelee + 30 ccm von der Lösung	2 prom.	$MgCl_2$	Gute Gelierung +++
	2 „	$MgSO_4$	
	2 „	KCl	
	1 „	Tannin	
30 ccm Gelee + 30 ccm von der Lösung	4 prom.	$MgCl_2$	Gute Gelierung ++++
	4 „	$MgSO_4$	
	6 „	KCl	

Aus diesen und anderen ähnlichen Versuchen ist zu entnehmen, daß bei Zusatz von Stimulationslösungen zu einer gegebenen Wassergelatinelösung der Gelierungsgrad noch beibehalten wird, während bei Zusatz von derselben Menge destillierten Wassers dieses letztere nicht mehr gebunden werden kann. Das Vorhandensein von Stimulationssubstanzen erhöht somit beträchtlich die Fähigkeit der Gelatine zur Wasseraufnahme.

III. Da die bis jetzt besprochenen Versuchsanordnungen sich als ziemlich unvollkommen für die genaue Feststellung des Gelierungsgrades erwiesen, so haben wir bei den späteren Versuchen folgendes Verfahren eingeschlagen. Zu ein und derselben Lösungs- bzw. Wassermenge wurde ein bestimmtes Quantum von Gelatine zugesetzt und nach Schmelzen- und Erstarrenlassen der Gelatinelösungen diejenige Gelatinemenge festgestellt, welche notwendig war, um denselben Grad von Gelierung zu erreichen wie den der Wasserkontrolle, welche als Standard diente. Es zeigte sich auch bei dieser Versuchsanordnung, wie aus den hier wiedergegebenen Protokollen zu ersehen ist, daß die Gelatinemenge, welche bei bestimmten chemischen Lösungen notwendig ist, um die Dichtigkeit der Gelierung der Wasserkontrolle zu erreichen, eine geringere war.

Bei diesen Versuchen haben wir außerdem getrachtet, eine größere Genauigkeit in der Abmessung des Gelierungsgrades zu erreichen, indem wir die Viskosität der Gelees durch die Zeit des Durchfließens durch ein graduiertes Rohr feststellten. Die so angestellten Messungen haben natürlich einen relativen Wert und die dabei gewonnenen Zahlen sind nur in den Rahmen eines Versuchskomplexes vergleichbar. Es wurde nur darauf acht gegeben, daß die an ein und demselben Tage vorgenommenen Messungen bei gleichen äußeren Bedingungen ausgeführt wurden. Bei diesen Messungen haben wir immer darauf geachtet, daß die halberstarrten Gelatinelösungen langsam dem inneren Rande des Messungsrohres entlang eingegossen wurden, damit eine Zerbröckelung des Gelees vermieden wurde.

Tabelle III.

A. **Das Hauptgewicht bei diesen Versuchen wurde auf die weitere Präzisierung der optimalen Konzentrationen der Stimulationslösungen für den Gelierungsprozeß gelegt.**

Die Lösungsmengen sind je 50 ccm.

Wasser + 0,6 g Gelatine. Erster Anfang von Gelierung.

Lösung	Zusatz	Ergebnis
5 prom. $MgCl_2$-Lösung 15 " " " 30 " " "	+ 0,6 g Gelatine	Die beste und kompakteste Gelierung zeigt die 5 prom. Lösung; 15 prom. Lösung zeigt gute Gelierung und 30 prom. Lösung schwache Gelierung.
5 prom. $MgSO_4$-Lösung 15 " " " 30 " " "	+ 0,6 g Gelatine	Wie bei $MgCl_2$. Nur ist der Gelierungsgrad überall entsprechend schwächer als bei $MgCl_2$.
0,25 prom. KJ-Lösung 0,5 " " " 1 " " "	+ 0,6 g Gelatine	Die beste Gelierung zeigt die 0,25 prom. Lösung, dann folgen der Reihe nach die 0,5 und 1 prom. Lösungen.
0,25 prom. KCl-Lösung 0,5 " " " 1 " " "	+ 0,6 g Gelatine	Die beste Gelierung zeigt die 1 prom. Lösung.
0,25 prom. Hydrochinon 0,5 " " 1 " "	+ 0,6 g Gelatine	Die beste Gelierung zeigt die 0,25 prom. Lösung, dann die 0,5 prom. und die schwächste Gelierung die 1 prom. Lösung.
0,25 prom. $MnSO_4$-Lösg. 0,5 " " " 1 " " "	+ 0,6 g Gelatine	Die beste Gelierung zeigte die 1 prom. Lösung.

Die nachfolgenden Versuche bezweckten ebenfalls die Präzisierung der optimalen Lösungskonzentration.

Versuch	Ergebnis
5 prom. $MgSO_4$ + 0,4 g Gelatine 30 " " + 0,4 g "	Die 5 prom. Lösung gibt bessere Gelierung als die 30 prom. Lösung.
5 " " + 0,4 g " 0,5 " " + 0,4 g "	Die 5 prom. Lösung gibt bessere Gelierung als die 0,5 prom. Lösung.

Der Erreichung desselben Zweckes dienten auch die folgenden Versuche: Durch Zusatz von verschiedenen Gelatinemengen wurde der Anfang der Gelierung festzustellen gesucht.

Das Wasser (50 ccm) zeigt den ersten Anfang von Gelierung bei 0,6 g Gelatine.

Das 5prom. $MgCl_2$ zeigte eine sehr gute Gelierung schon bei 0,4 g Gelatine und

das 15prom. $MgCl_2$ bei 0,5 g Gelatine.

Auch diese Versuchsanordnung zeigt: 1. die starke gelierungfördernde Fähigkeit der $MgCl_2$-Lösungen im Vergleich zu reinem Wasser und 2., daß die optimale Gelierungskonzentration von $MgCl_2$ bei 5 Prom. besser ist als bei 15 Prom. Andere, ähnlich angestellte Untersuchungen ergaben, daß die optimale Lösungskonzentration bei etwa 10 Prom. liegt.

B. Einen präziseren Ausdruck des Gelierungsgrades bekommen wir, wie schon hervorgehoben, durch die Feststellung der Durch-

fließungsgeschwindigkeit von 50 ccm des jeweiligen Gelees durch ein graduiertes Meßrohr. Da dieser Durchfließungskoeffizient sehr stark von der Temperatur beeinflußt wird, so haben wir jede diesbezügliche Versuchsserie bei ein und derselben Zimmertemperatur ausgeführt. Die Zahlen der verschiedenen Versuchsserien, da bei verschiedenen Zimmertemperaturen ausgeführt, sind deshalb nicht streng miteinander vergleichbar, auch deshalb nicht, weil bei den verschiedenen Versuchsserien die Feststellung der Zeit des Durchfließens nicht nach ein und derselben Stundenzahl, sagen wir 20 oder 24 Stunden nach Beginn des Versuchs, vorgenommen wurde; die Konsistenz des Gelees steigert sich aber bis zu einem gewissen Grade mit der Zeit.

Durch das Messungsrohr fließen:

50 ccm Wasser		in 38	Sekunden
50 „ „	+ 0,4 g Gelatine	„ 42	„
50 „ „	+ 0,5 g „	„ 48	„
50 „ „	+ 0,6 g „	„ **52**	„
50 „ „	+ 0,7 g „	„ 98	„
50 ccm 5 prom. $MgCl_2$		„ 39	„
50 „ 5 „ „	+ 0,3 g Gelatine	„ 44	„
50 „ 5 „ „	+ 0,4 g „	„ 51	„
50 „ 5 „ „	+ 0,5 g „	„ 70	„
50 „ 5 „ „	+ 0,6 g „	„ **142**	„
50 „ 15 „ „		in 39 bis 40	„
50 „ 15 „ „	+ 0,4 g Gelatine	in 48	„
50 „ 15 „ „	+ 0,5 g „	„ 57	„
50 „ 15 „ „	+ 0,6 g „	„ **180**	„

Der Vergleich der erhaltenen Zahlen zeigt, daß der Gelierungsgrad des Wassers bei **0,6 g** Gelatine fast gleich stark mit dem Gelierungsgrad von 5 prom. $MgCl_2$ bei **0,4 g** Gelatine und von 15 prom. $MgCl_2$ bei etwa **4,5 g** Gelatine ist. Dieser Versuch zeigt ebenfalls, daß der Gelierungsgrad von 5 prom. $MgCl_2$ größer ist als von 15 prom. $MgCl_2$.

Noch genauer wurde die optimale Gelierungskonzentration der Lösungen von $MgCl_2$ durch folgende Versuche festgestellt (30. Juli 1924; Temperatur 23° C).

Durch das Messungsrohr fließen:

50 ccm 5 prom. $MgCl_2$	+ 0,5 g Gelatine	in **84**	Sekunden
50 „ 10 „ „	+ 0,5 g „	„ **106**	„
50 „ 15 „ „	+ 0,5 g „	„ 88	„
50 „ 30 „ „	+ 0,5 g „	„ 87	„
50 „ Wasser	+ 0,5 g Gelatine	„ **68**	„

Ein anderer ähnlicher Versuch ergab die folgenden Werte (8. August 1924; Temperatur 22,5° C).

Durch das Messungsrohr fließen:

50 ccm	5 prom.	$MgCl_2$	+ 0,5 g	Gelatine	in 85	Sekunden
50 „	10 „	„	+ 0,5 g	„	„ 112	„
50 „	15 „	„	+ 0,5 g	„	„ 94	„
50 „	30 „	„	+ 0,5 g	„	„ 70	„
50 „	Wasser		+ 0,5 g	Gelatine	„ 68	„

Also zeigen diese Versuche, daß die günstigste Gelierungskonzentration für die Lösungen von $MgCl_2$ zwischen 5 und 15 Prom., und zwar bei etwa **10 Prom.** liegt.

Für $MnSO_4$ liegt die optimale Konzentration bei 15 Prom., wie dies aus dem folgenden Versuch zu entnehmen ist:

Durch das Messungsrohr fließen:

50 ccm	5 prom.	$MnSO_4$	+ 0,5 g	Gelatine . . .	in 76	Sekunden
50 „	10 „	„	+ 0,5 g	„ . . .	„ 69	„
50 „	15 „	„	+ 0,5 g	„ . . .	„ 98	„
50 „	30 „	„	+ 0,5 g	„ . . .	„ 76	„

Frühere Versuche (s. Tabellen I und II) haben uns gezeigt, daß die geringeren Konzentrationen wie 1 Prom. von KCl nicht besonders günstig für die Gelierung sind. 50 ccm 1 prom. KCl + 0,4 g Gelatine gelierten dagegen schon gut. Weitere Versuche zeigten aber, daß der Gelierungsgrad gebessert wird bei Steigerung der Konzentrationen. So z. B. 50 ccm 2 prom. KCl + 0,4 g Gelatine gelierten besser wie 1 prom. KCl, und 3 prom. KCl (bei derselben Versuchsanordnung) gelierte besser wie 2 prom. KCl. Die weiteren Versuche zeigten, daß das Gelierungsoptimum von KCl bei der Lösung von 5 Prom. liegt.

Genau so haben uns viele Versuche gezeigt, daß die Gelierung mit Lösungen von KBr eine Steigerung, von 1- bis 5 prom. KBr, erfährt, wo sie ihren Höhepunkt erreicht.

Eine vergleichende Übersicht über die Gelierungsgrade verschiedener Stimulationsmittel wie auch Kombinationen derselben geben uns die Ergebnisse folgender Versuche (Temperatur 15 bis 16° C; je 50 ccm Lösung + 0,4 g Gelatine):

Durch das Messungsrohr fließen:

5 prom.	$MgCl_2$	in 55	Sekunden
15 „	„	„ 56	„
5 „	$MgSO_4$	„ 54	„
15 „	„	„ 57	„
5 „	$MnSO_4$	„ 60	„
15 „	„	„ 62	„
5 „	KCl	„ 54	„
5 „	KBr	„ 59	„
5 „	KJ	„ 56	„
5 „	$Mn(NO_3)_2$	„ 52	„
15 „	„	„ 59	„

0,25 prom.	chemisch reines Chinaldin	in	54	Sekunden
0,25 „	technisches Chinaldin	„	56	„
0,50 prom.	chemisch reines Chinaldin	„	66	„
0,50 „	technisches Chinaldin	„	64	„
20 „	$MgCl_2$ + 10 prom. $MgSO_4$	„	56	„
15 „	$MgCl_2$ + 15 „ $MgSO_4$	„	56	„
15 „	$MgCl_3$ + 5 „ $MgSO_4$	„	55	„
5 „	$MgCl_2$ + 15 „ $MgSO_4$	„	62	„
5 „	$MgCl_2$ + 15 „ $MnSO_4$	„	62	„
5 „	$MgCl_2$ + 5 „ $MnSO_4$	„	60	„
15 „	$MgCl_2$ + 15 „ $MnSO_4$	„	65	„
20 „	$MgSO_4$ + 10 prom. $MnSO_4$	„	58	„
15 „	$MgSO_4$ + 12 „ $MnSO_4$	„	56	„
15 „	$MnSO_4$ + 15 „ $Mn(NO_3)_2$	„	59	„
5 „	$MgCl_2$ + 15 prom. $Mn(NO_3)_2$	„	59	„
15 „	$MgCl_2$ + 15 „ $Mn(NO_3)_2$	„	54	„
5 „	$MgCl_2$ + 5 prom. $MgSO_4$ + 5 prom. $MnSO_4$	„	54	„
20 „	$MgCl_2$ + 10 prom. $Mn(NO_3)_2$	„	52	„
15 „	$MgCl_2$ + 5 „ $Mn(NO)_3)_2$	„	56	„
15 „	$MgSO_4$ + 0,5 prom. KJ	„	55	„
5 „	Glycerin + 0,5 prom. Tannin	„	50	„
Wasser + **0,4 g** *Gelatine*		„	**42**	„

Da das Brunnenwasser von Berlin stark mineralhaltig ist, so war zu erwarten, daß es einen höheren Gelierungskoeffizienten aufweisen würde als das destillierte Wasser. Die Versuchsergebnisse entsprechen diesen Erwartungen (11. Juni 1924; Temperatur 22,5° C).

Durch das Messungsrohr fließen:

50 ccm	*destilliertes Wasser* + 0,4 g Gelatine	in	44	Sekunden
50 „	***Brunnenwasser*** + 0,4 g „	„	50	„
50 „	5 prom. $MgCl_2$ + 0,4 g „	„	62	„
50 „	15 „ $MgCl_2$ + 0,4 g „	„	66	„
50 „	15 „ $MnSO_4$ + 0,4 g „	„	67	„
50 „	15 „ $MgCl_2$ + 15 prom. $MnSO_4$ + 0,4 g Gelatine	„	58	„
50 „	2 „ KBr + 0,4 g Gelatine	„	55	„
50 „	5 „ KBr + 0,4 g „	„	58	„
50 „	2 „ KJ + 0,4 g „	„	58	„

Wir wollen die vielen anderen Versuche, die gemacht wurden, um die Beeinflussung des Gelierungsgrades durch die Stimulationslösungen festzustellen, hier nicht weiter wiedergeben. Das Hauptergebnis aller dieser Versuche ist:

1. daß durch Zusatz von Stimulationsmitteln im Wasser der Gelierungsgrad derselben beträchtlich gesteigert wird, so daß die darin aufgelöste Gelatine etwa 30 Proz. mehr Wasser zu binden imstande ist, als dies eine mit reinem destillierten Wasser zubereitete Gelatinelösung tun kann. Diese Feststellung ist von großer biologischer Bedeutung, denn sie läßt die Möglichkeit zu, kolloidale Lösungen, die

ihren Imbibitions- und Quellungsgrad mit der Zeit verloren haben, wie dies bei den alternden Zellen der Fall ist, durch geeignete Stimulationsbehandlung wieder zu heben. Das Problems des Alterns, wie frühere Untersuchungen von *Bechhold* u. a. gezeigt haben, ist in erster Linie ein kolloidal-chemisches Problem. Und unsere Versuche zeigen, daß es möglich ist, durch geeignete chemische Einwirkungen den Quellungsgrad einer kolloidalen Substanz zu heben.

Bei der Stimulationseinwirkung auf die lebende Zelle, welche, wie *Popoff* gezeigt hat, zu einer starken Hebung der integralen Lebensvorgänge führt, spielen, dem oben Gesagten zufolge, auch die kolloidalen Veränderungen der lebenden Substanz eine nicht unbeträchtliche Rolle; denn dadurch werden die stimulierten Zellen, pflanzliche oder tierische, was die Wasseraufnahmefähigkeit anbelangt, in den Zustand einer eben befruchteten Eizelle oder in den einer ganz jungen embryonalen Zelle zurückversetzt. Der Lösungsgrad des lebenden Kolloids aber steht in engstem Zusammenhang mit der Intensität der Lebensvorgänge.

2. Bei seinen Studien über die Wirkung der Stimulationslösungen auf die lebende Zelle zeigte *Popoff*, daß eine optimale Konzentration existiert, bei welcher die Lebensvorgänge am intensivsten beeinflußt werden. Unter und über der Optimalkonzentration befindet sich die Stimulationseinwirkung im Auf- bzw. im Abstieg. Auffallend ist es nun, daß einen ähnlichen Einfluß die Stimulationslösungen auch auf die Quellungsfähigkeit der Kolloide (in unserem Falle auf die Gelatine) zeigen. Es gibt auch hier eine optimale Lösungskonzentration, bei welcher diese Quellungsfähigkeit am stärksten ist. Schwächere und stärkere als die optimalen Lösungskonzentrationen zeigen einen Auf- bzw. Abstieg in der Beeinflussung der Quellungsfähigkeit der Kolloide, und für Zellen, welche an Süßwasser angepaßt sind, zeigen die in der vorliegenden Studie bei der Gelatine gemachten Ermittlungen über die optimalen Lösungskonzentrationen im Zusammenhang mit der optimalen Quellungsfähigkeit eine ziemlich sich deckende Parallele mit den für die Zellen angewandten Stimulationslösungskonzentrationen. Diese letzteren werden aber sofort andere, wenn es sich um Zellen handelt, welche dem Meerwasser angepaßt sind (s. *Popoff*, Stimulationsstudien an reifen Seeigeleiern. Zellstimulationsforschungen, Heft 3).

Die Parallelität dieser Feststellungen beweist abermals, daß die Lebensstimulationserscheinungen auch im engsten Zusammenhang mit kolloidalen Umänderungen in der Zelle stehen. Als eine bemerkenswerte kolloidale Umänderung haben wir in dieser Studie die Hebung der Quellungsfähigkeit der kolloidalen Substanz festgestellt. Dieselbe Hebung der Quellungsfähigkeit zeigen auch die stimulierten Zellen,

d. h. die lebende kolloidale Substanz, wie dies aus den Versuchen *Popoffs* und *Paspaleffs* an der freizelligen *Euglena gracilis* festgestellt werden konnte.

3. Die Zellstimulation ist also nicht nur durch chemische Umänderungen in der lebenden Substanz bedingt (s. *Popoff*, Zellstimulantien und ihre theoretische Begründung, I. und II. Teil. Zellstimulationsforschungen, Heft 1 und 2), sondern auch durch parallel laufende kolloidale Umänderungen derselben. Und auffallend ist, daß die optimale Stimulationseinwirkung alle beide Umänderungsrichtungen gleichmäßig und gleichzeitig beeinflußt.

Die Beziehungen des Blutzuckers zum Glykogen.

Von

Hans Pringsheim (Berlin).

(Eingegangen am 18. Januar 1925.)

Wir gehen für unsere Betrachtungen von der Tatsache aus, daß nach neueren Beobachtungen (1) der Blutzucker nicht in Gestalt der gewöhnlichen Glucose, sondern der γ-Glucose im Blutserum vorhanden ist. Wir verstehen unter γ-Glucose eine labile Form des Traubenzuckers, welche in wässeriger Lösung unbeständig ist und die sich hier schnell in normale Glucose umlagert; diese Umlagerung ist von einem Anstieg der spezifischen Drehung begleitet, während die Reduktionskraft der normalen und der γ-Glucose gegenüber *Fehling*scher Lösung die gleiche ist. Auf Grund dieser beiden Identifizierungsmöglichkeiten gelingt es, die γ-Glucose von der gewöhnlichen Glucose zu unterscheiden, da sie, der Einwirkung gewisser Faktoren im Blute entrückt, dem spezifischen Drehungsvermögen der Gleichgewichtsglucose bei gleichbleibender Reduktionskraft zustrebt. Zu den Faktoren, welche die Umwandlung des Zuckers in die labile Form verursachen, gehört die Wirkung des Insulins, des Hormons, welches beim normalen Menschen in der Bauchspeicheldrüse abgesondert wird und beim Diabetiker künstlich zugeführt werden kann (2).

Ein besonderes Charakteristikum der γ-Glucose, und somit auch des Blutzuckers, ist ihre leichte Oxydierbarkeit, die sich in vitro in der Eigenschaft äußert, alkalische Permanganatlösung zu reduzieren, und die in vivo die Vorbereitung für die energiespendende Oxydation darstellt. Zuckerchemisch drückt sich die Umlagerung von der normalen zur labilen Form des Traubenzuckers in einer Veränderung des Oxozyklus aus, welche durch die nachstehenden Formeln veranschaulicht wird[1]).

---

[1]) Ich gebe diese Formeln, um dem Nichtspezialisten das Verständnis für diese Vorstellung zu erleichtern.

```
   C<H           *┌─────┐      *┌─────┐        ┌──────┐
     O       H—C—OH │   HO—C—H  │   (HO)—C—H    │
   |           |    │     |     │        |      │
H—C—OH      H—C—OH  O   H—C—OH  O     H—C—OH    │
   |           |    │     |     │        |      │
HO—C—H     HO—C—H   │  HO—C—H   │    HO—C—H     O
   |           |    │     |     │        |      │
H—C—OH      H—C─────┘   H—C─────┘     H—C—OH    │
   |           |          |              |      │
H—C—OH      H—C—OH      H—C—OH        H—C—OH    │
   |           |          |              |      │
  CH2OH       CH2OH      CH2OH          CH2─────┘
```

Glucose (Aldehydform) — α-Glucose, β-Glucose (Oxo-cyclo-Form [1, 4]) — γ-Glucose [1, 6]

Die 1, 6-Sauerstoffbrücke in der γ-Glucose wurde von mir willkürlich, aber in Hinblick auf die zu erörternde Struktur des Glykogens gewählt; in Wirklichkeit kennen wir die definitive Struktur der γ-Glucose nicht, und ihre Festlegung wird schwierig bleiben, da wir ja den Zucker in seiner labilen Form nicht verarbeiten können.

Vor kurzem hat *O. Warburg* (3) eine bemerkenswerte Entdeckung gemacht, er zeigte, daß die Fructose bei neutraler Reaktion in konzentrierten Phosphatlösungen durch den molekularen Sauerstoff recht energisch verbrannt wird, wohingegen der Traubenzucker unter den gleichen Versuchsbedingungen unangegriffen bleibt. Hier sei zuerst darauf hingewiesen, daß der Organismus des Diabetikers den Fruchtzucker leichter verbrennt als andere Zuckerarten.

Vier Zuckerarten spielen, wie wir sehen werden, in der belebten Natur eine besondere Rolle; es sind das die Glucose, die Mannose, die Fructose und die Galaktose. Diese vier Hexosen sind die einzigen, welche von dem Gärungsfermentgemisch, welches wir unter dem Namen Zymase zusammenfassen, vergoren werden[1]). Bei der alkoholischen Gärung werden die drei ersten der genannten Zucker unter dem Einfluß eines Teilferments, der Phosphatese, in den Diphosphorsäureester eines Zuckers umgewandelt, welcher bei der Isolierung als Fructosediphosphorsäure folgender Formel in Erscheinung tritt:

```
CH2—O—PO2H2
|
C=O
|
CH—O—H+   ┐
|         │
CH—O—H+   │ eines der H+-Atome ist durch
|         │ den Phosphorsäurerest ersetzt.
CH—O—H+   │
|         │
CH2—O—H+  ┘
```

[1]) Von der schwachen Vergärbarkeit des Dioxyacetons und der unsicheren der Nonosen sehen wir ab.

Man hat für die Umwandlung der drei Zymohexosen als Erklärung herangezogen, daß ihnen, entsprechend nachstehender Formulierung, eine gemeinsame Enolform zukommt:

```
              CHO
               |
            H—C—OH
Glucose        |
           HO—C—H
               :                                   CH(OH)
              CHO                                   ||
               |                                    C—OH
           HO—C—H                                   |
Mannose        |           ——————→ Enolform     HO—C—H
           HO—C—H                                   |
               :                                 H—C—OH
              CH2OH                                 |
               |                                 H—C—OH
              CO                                    |
Fructose       |                                    CH2OH
           HO—C—H
               :
```

Bemerkenswert ist hierzu, daß die im Rohrzucker vorhandene γ-Fructose zum Teil in der Enolform vorhanden ist (4).

Wir sind der Meinung, daß das Produkt der Phosphatesewirkung ursprünglich nicht die Fructosediphosphorsäure ist, welche wir bei der Isolierung in die Hand bekommen, sondern der Phosphorsäureester eines γ-Zuckers, der erst bei der Isolierung in das stabile Derivat der Fruchtzucker übergeht. Die Glucose, die in der stabilen Struktur von Phosphorsäure nicht ohne tiefgreifende chemische Hilfsmittel verestert wird, geht im Blute unter dem Einfluß des Insulins, d. h. beim Übergang in die γ-Form in einen Phosphorsäureester über, dessen Bildung sich in der Verminderung des Phosphationengehalts des Blutes äußert (5). Wir halten es für wahrscheinlich, daß die Fructosediphosphorsäure in der Lösung in einem Gleichgewichtszustand zu dem instabilen Phosphorsäureester des γ-Zuckers steht, und daß dieses Gleichgewicht auch in dem *Warburg*schen Versuch hergestellt wird. Denn es ist auffallend, daß die Oxydation der Fructose durch molekularen Sauerstoff nur bei Gegenwart starker Phosphationen, nicht aber dann gelingt, wenn die gleiche Wasserstoffionenkonzentration durch andere Ionen hergestellt wird. Unter diesen Voraussetzungen wird also in dem geschilderten Experiment nicht die Fructose selbst, sondern ihr γ-Glucoseäquivalent, und zwar in derselben Form wie das Einwirkungsprodukt der Phosphatese auf Glucose, Mannose und Fructose verbrannt.

Schwieriger ist es, sich mit der Vergärbarkeit und Glykolyse der Galaktose abzufinden, die bekanntlich weit langsamer vergoren[1]) wird und deren Assimilationsgrenze auch für den normalen Organismus tief unter der der drei leicht vergärbaren Zymohexosen liegt[2]). Möglicherweise läßt sich die Sonderstellung der Galaktose durch die Tatsache, daß sie trotz sterischer Verschiedenheiten am vierten Kohlenstoffatom von den drei anderen vergärbaren Zuckern, also trotz mangelnder Übereinstimmung der Enolform vergoren wird, dadurch erklären, daß nach neueren Feststellungen (6) gerade der Galaktose ein Sauerstoffring von größerer Spannweite als den anderen bekannten Hexosen zukommt, wie aus nachstehender Formel hervorgeht:

```
    ┌──────────┐
  H—C—(OH)     │
    |          │
  H—C—OH       │
    |          │
 HO—C—H        │
    |          O      Galaktose
 HO—C—H        │
    |          │
  H—C——————————┘
    |
    CH2OH
```

Hierzu kommt, daß eine synthetisierte Galaktose-diphosphorsäure intensiver von Hefe vergoren wird als der freie Zucker (7). Wenn die Galaktose also auch einen anderen Diphosphorsäureester liefert, so kann sie vielleicht durch die Eigenart ihres Oxozyklus für die Vergärung und Verbrennbarkeit prädestiniert sein.

Schon lange ist bekannt, daß das glykolytische Ferment in seiner Auswirkung ein Analogon des Gärungsferments darstellt, und daß unter seinem Einfluß, z. B. bei der Anaërobenatmung, Alkohol und Kohlensäure gebildet werden. Auch sein Angriff beschränkt sich auf die Zymohexosen. Von besonderem Interesse ist, daß das Lactacidogen, die Phosphorsäure und Milchsäure bildende Substanz des quergestreiften Muskels, nun definitiv mit der Gärungshexose-diphosphorsäure identisch befunden wurde (8). Aber nicht nur die normale Zelle, auch die Karzinomzelle spaltet bei der Glykolyse speziell die vier genannten Hexosen in Milchsäure, wobei allerdings die Wirkung nicht nur auf die Galaktose, sondern auch auf die Fructose im Vergleich zu der auf die Glucose und Mannose stark verlangsamt ist (9).

Aus dem Gesagten soll nicht nur die besondere Eignung der Zymohexosen für die Vergärung und Verbrennung, sondern besonders ihre

---

[1]) Von der Anpassung der Hefe an die Galaktose sehen wir hier ab.
[2]) *Oppenheimer*, Handb. d. Biochem., 2. Aufl., **5**, 296, 1924.

Beziehung zu einer labilen γ-Hexose, wie wir sie im Blutzucker kennengelernt haben, erhellen.

Es ist eine auffallende und bisher wohl niemals hervorgehobene Tatsache, daß die drei bei der Assimilation der Kohlensäure im grünen Blatt entstehenden und zu anderen Stellen des Pflanzenorganismus als Reservematerial abtransportierten Kohlehydrate, die Stärke, der Rohrzucker und das Inulin labile Monosereste enthalten. Zuerst wurde die Feststellung am Rohrzucker gemacht, der im Fructoseteil einen Amylenoxydring aufweist (4), nicht lange darauf konnte nachgewiesen werden, daß sich Inulin ausschließlich aus denselben Fructoseresten aufbaut (10), und kürzlich wurde der Beweis auch für die γ-Glucosenatur der Stärke geführt (11) und durch besondere Versuche erhärtet (12). Wir werden sehen, daß das Glykogen mit der Hüllsubstanz der Stärke identisch ist, so daß auch dieses Polysaccharid labile Glukosereste als Bausteine enthält. Interessant ist ferner die Beziehung der vier genannten assimilatorischen Polysaccharide zur Phosphorsäure: die beiden, welche sich aus einer labilen Form des Traubenzuckers aufbauen, gehen aus ihren natürlichen Lagerstätten als Phosphorsäureester hervor, nämlich die Stärke und das Glykogen, wohingegen der Rohrzucker und das Inulin, deren labile Natur im Fructoseteil ruht, unverestert als Assimilate erscheinen.

Für die direkte Glykogenbildung in der tierischen Leber kommen schon nach älteren Angaben (13) nur die von der Hefe vergärbaren Hexosen in Frage, gleichgültig ob sie als solche oder in Gestalt von Polysacchariden zur Verfügung gestellt werden, für deren Hydrolyse der Organismus über die nötigen Carbohydasen verfügt; auch hier steht die Galaktose etwas abseits und wird unsicherer zum Glykogen kondensiert. Eins steht jedenfalls mit Sicherheit fest, daß die Beschaffenheit des gebildeten Glykogens von der Ernährung unabhängig ist, daß das Glykogen aller Tiere an allen Lagerstätten das gleiche chemische Individuum darstellt, ja daß auch die Glykogenarten anderen Ursprungs, z. B. das Austern- und Hefeglykogen prinzipiell, d. h. abgesehen von ihrem dispersen Lösungszustand in Wasser, nicht voneinander abweichen.

In eine gewisse Analogie zur Glykogenbildung können wir die der Stärke bei Lichtabschluß in den durch Verdunklung entstärkten Chloroplasten grüner Blätter setzen; auch für diese Assimilation sind nur die Zymohexosen geeignet. Bisher gibt es nur eine Ausnahme, das Glycerin, das auch als direkter Glykogenbildner erkannt wurde. Hiermit im Zusammenhang sei aber erwähnt, daß nach den Untersuchungen von *Neuberg* (15) gerade die Glycerinphosphorsäure unter dem Einfluß der Hefe Kohlensäureabspaltung erleidet.

Die nahe biologische Verwandtschaft des Glykogens und der Stärke geht des ferneren aus der Tatsache hervor, daß diese beiden Polyosen — und nach unserer bisherigen Kenntnis nur sie — von den spezifischen stärkespaltenden Fermenten, den Amylasen, quantitativ in Maltose umgewandelt werden.

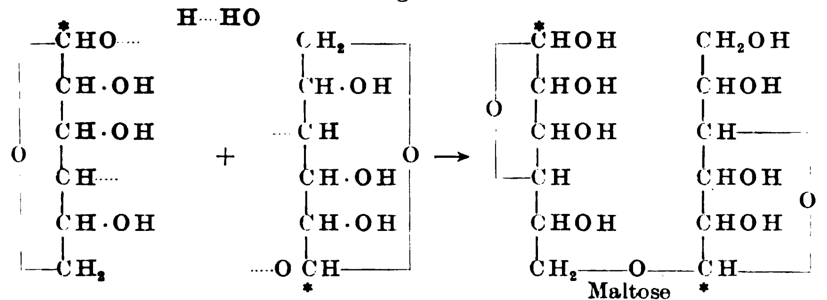
Als geeignet für die Milchsäurebildung im Muskel, die ja mit dem Glykogen in Wechselwirkung steht, erwiesen sich neben Glykogen und Stärke, von denen ersteres optimal wirksam war, noch Lävulose, Glucose und Mannose in der angegebenen Reihenfolge. Auch hier marschiert diese Ketose wieder an der Spitze, während die stereoisomere Sorbose sich als unwirksam erwies (16). Interessant ist, daß die Milchsäurebildung durch α-Glucose stärker als durch β-Glucose gesteigert wird (17), ebenso wie sie sich als schneller vergärbar durch Hefe gezeigt hat (18). Was die Galaktose angeht, so ist ihre Eignung für die Milchsäurebildung umstritten; sie lag jedenfalls an der Grenze der methodischen Fehlerquellen. Schon *Laquer* hat zusammenfassend darauf hingewiesen (16), daß bei der Spaltung des Glykogens im quergestreiften Muskel ein besonderes, vielleicht noch unbekanntes Kohlehydrat, oder eine besondere Form eines bekannten Kohlehydrats entsteht, daß weiter zu Milchsäure abgebaut wird, möglicherweise nur deswegen, weil es sich besonders gut mit Phosphorsäure zu Hexosediphosphorsäure verestert. Diese besondere, von ihm als „Reaktionsform" bezeichnete Stufe des Kohlehydratabbaus im Muskel, die er neuerdings (17) für α-Glucose oder einen ihr nahestehenden Zucker hält, dürfte nach dem Dargelegten die γ-Glucose sein, welcher wir im Blutzucker begegnen.

Denn, und das ist der Hauptpunkt unserer Darlegungen, auf den wir unabhängig vom Vorhergegangenen durch das Studium der Konstitution des Glykogens und der Stärke gekommen sind, diese Polyosen enthälten in ihrem Molekül die Reste der γ-Glucose, die im Blutzucker labil vorhanden ist, in einer durch die Bindungsart der Traubenzuckerreste untereinander festgefügten Form. Wir geben diesem Radikal die nachstehende Struktur:

```
 ┌—CH₂
 │  |
 │  CH·OH
 │  |
 │  CH—O ...
 O  |
 │  CH·OH
 │  |
 │  CH·OH
 │  |
 └—CH—O ...
    *
```

weil die Festlegung der freien Valenz am vierten C-Atom durch das intermolekulare, die Kohlenstoffatome der Glucosereste verbindende

Sauerstoffatom, diejenige Stelle des Moleküls besetzt hält, nach der der glucosidische Sauerstoffring beim Übergang in die stabile Form der Glucose hinüberschwingen würde. Wir legen die oxozyklische Bindung an das sechste Kohlenstoffatom, weil nur so der Übergang in die Maltose, die 6-Glucosidoglucose, zu erklären ist, die bei der fermentativen Spaltung des Glykogens und der Stärke quantitativ erfolgt. Denn bei Freilegung des Radikals wird die 6-Stellung durch Umlegung des Sauerstoffringes frei und für die Verbindung der beiden Glucosereste in der Maltose verfügbar. Diese Umwandlung vollzieht sich aus dem Radikal in der folgenden Weise:



Durch Versuche, auf deren Einzelheiten hier nicht eingegangen werden kann, konnte gezeigt werden, daß Glykogen mit der Hüllsubstanz der Stärke identisch ist, und daß beide Polyosen sich aus drei Glucoseresten aufbauen, während die Inhaltssubstanz der Stärke ein Anhydro-Disaccharid darstellt. Wir formulieren die Elementarkörper dieser Stoffe als Di- und Trihexosan in der folgenden Weise:

```
                          CH2———      6.      CH2
                           |                   |
                          CH.OH       5.      CH.OH
        *                  |                   |                               *
1.  —CH—   —O             CH          4.      CH ——— O ————————————CH———
      |                    |       O           |                    |
2.  | CH.OH               CH.OH    | 3.       CH.OH               CH.OH |
      |                    |                   |                    |
3.  | CH.OH               CH.OH    | 2.       CH.OH               CH.OH |
   O  |                    |                   |                    |      O
4.  | CH ———O———CH————————         1.       CH                 —CH     |
      |                    *                   *                |   |
5.  | CH.OH                                    O                O  CH.OH |
      |                                                         |   |
6.  —CH2                                                        |  CH2———
          Dihexosan                                             |
                      CH2.CHOH.CH.CHOH.CHOH.CH
                      |                     *
                      ————————— O ——————————
                                       Trihexosan
```

und machen die Annahme, daß die Polymerisation der Grundelemente zum Molekül der Stärkebestandteile bzw. des Glykogens durch Umlegung der Sauerstoffbrücken von einem Grundelement zum nächsten

und so fort entsprechend einem Vorschlag von *Bergmann* (19) bei einfachen Zuckermodellen erfolgt, wie das durch folgendes Schema angedeutet wird:

```
···HC*—       ┌—C*H····            ····HC*——O——C*H····
    |         |  |                      |          |
HOHC          |  CHOH             HOHC             CHOH
    |         |  |                      |          |
HOHC   |      |  CHOH             HOCH             CHOH
    |  O   O     |          —→          |          |
···HC            CH                ····HC          CH···
    |            |                      |          |
HOCO          |  CHOH             HOHC             CHOH
    |  |      |  |                      |          |
 H₂C—┘        └—CH₂                H₂C——  O  ——CH₂
```

Polymerisation der Elementarkörper, z. B. des Glykogens.

Die Umwandlung der Stärkebestandteile in Maltose wird dadurch ermöglicht, daß bei der Spaltung des Dihexosans zwei und bei der des Trihexosans drei der von uns formulierten Radikale gebildet werden, die unter Verschiebung der Sauerstoffbrücken und Wasseranlagerung entsprechend zu Maltose zusammentreten. Das dritte, aus dem Trihexosan stammende Radikal muß diese Verknüpfung mit einem Restradikal eines zweiten Trihexosanmoleküls erleiden.

Wir sehen aus diesen Darlegungen, daß die fermentative Maltosebildung aus Glykogen und Stärke eine Synthese in sich schließt, eine Synthese, welche unabhängig von der Konzentration und nicht analog jenen Reversionssynthesen ist, die bei verschiedenen Fermenten als Folge eines zur Hydrolyse gegensätzlichen Reaktionsgefälles beobachtet worden ist. Für letztere Art der synthetischen Fermentwirkung dürften die Bedingungen in der Natur nur selten geboten sein; um so wichtiger ist es, daß wir in unseren Ergebnissen Erfahrungen für eine neue Form der synthetischen Wirkung von Fermenten gesammelt haben, die als erstes Beispiel für einen Vorgang dienen können, der im Stoffwechsel vielleicht häufigere Analoga aufweisen wird, als man heute annehmen kann. Das Charakteristikum dieses Vorgangs ist, daß durch Fermentspaltung instabile Gruppen mit freien Valenzen entstehen, die nach der Umlagerung neue Bindungen untereinander oder eventuell auch mit anderen gleichzeitig in Freiheit gesetzten Bruchstücken von Molekülen zusammentreten. Dadurch ist der Vielfältigkeit derartiger Synthesen ein breiter Spielraum geboten. So kann z. B. die Paarung erklärt werden, die der Oxydation der primären Alkoholgruppe der Glucose zur Glukuronsäure vorangeht.

Nach dem Gesagten ist die Maltose kein Zwischenprodukt wichtiger biologischer Vorgänge, sondern nur ein Exkret des Stoffwechsels. Dadurch wird jetzt verständlich, warum sie weder zur direkten Glykogenbildung in der Leber (12) noch zur Milchsäurebildung im Muskel (16) geeignet befunden worden ist.

In diesem Zusammenhange wird die Tatsache interessant, daß von den ihrer biologischen Bedeutung wegen wichtigen reduzierenden Disacchariden, von denen der Milchzucker, die Gentiobiose, die Melibiose und die Cellobiose genannt seien, nur die Maltose als α-Glucosid erkannt werden konnte; bisher war dieser Befund auffallend, denn wir wissen, daß die Natur eine Vorliebe für die β-glucosidische Bindung zeigt, sind doch alle Glucoside natürlichen Ursprungs, welche nichtzuckerartige Komponente sie auch immer tragen mögen, β-glucosidischer Konfiguration. Heute verstehen wir, warum die Maltose eine Ausnahme von der Regel macht.

Auch beim Assimilationsprozeß ist die Maltose bisher nicht als Zwischenprodukt auf dem Wege von der Kohlensäure zur Stärke nachgewiesen worden, ja selbst der Traubenzucker dürfte nicht als Glied der Kette dieser Vorgänge anzusehen sein. Wir sind vielmehr der Meinung, daß gerade hier schon der Ursprung der γ-Glucoseform der Stärke gefunden werden kann, daß das von uns formulierte Radikal durch Kondensation aus dem Formaldehyd hervorgeht, der bei der Reduktion der Kohlensäure unter der Gemeinschaftswirkung von Licht und Chlorophyll entsteht, und daß diese Radikale sich im Chloroplasten zum Stärkekorn kondensieren.

So klingt unsere Darlegung in die Betrachtung aus, daß die im Blutzucker labil festgehaltene Form der Glucose den Kohlenhydratstoffwechsel beherrscht, daß sie zuerst bei der Sythese ensteht, in den wichtigen Assimilaten Glykogen und Stärke festgelegt wird und schließlich diejenige leicht oxydable Struktur darstellt, welche die Wechselbeziehung zur Milchsäure und die endliche Verbrennung ermöglicht.

Literatur.

1) *Hewitt* und *Pryde*, Biochem. Journ. **14**, 395, 1920; *Winter* und *Smith*, Journ. of Physiol. **57**, 100, 1922; *Nakahayashi* und *Abelin*, diese Zeitschr. **147**, 544, 1924; vgl. dagegen *Stiven* und *Reid*, Biochem. Journ. **17**, 356, 1923; *Thannhauser* und *Jenke*, Münch. med. Wochenschr. **71**, 196, 1924. — 2) *Forrest*, *Smith* und *Winter*, Journ. of Physiol. **57**, 224, 1923. — 3) *O. Warburg* und *Yabusoe*, diese Zeitschr. **146**, 380, 1924. — 4) *Haworth* und *Mitchell*, Soc. **123**, 301, 1923. — 5) *Blatherwick*, *Bell* und *Hill*, Journ. of biol. Chem. **61**, 241, 1924. — 6) *Pryde*, Soc. **123**, 1808, 1923. — 7) *Neuberg* und *Kretschmer*, diese Zeitschr. **36**, 5, 1911. — 8) *Embden* und *Zimmermann*, H. **141**, 225, 1924. — 9) *O. Warburg*, Die Naturwissenschaften **12**, 1122, 1924. — 10) *Irvine*, *Steele* und *Shannon*, Soc. **121**, 1060, 1922. — 11) *H. Pringsheim*, B. **57**, 1581, 1924. — 12) *R. Kuhn*, B. **57**, 1965, 1924. — 13) Vgl. die Zusammenstellung bei *H. Pringsheim* und *H. v. Hoesslin*, H. **131**, 168, 1923. — 14) Zusammengestellt bei *H. Pringsheim* und *K. O. Müller*, H. **118**, 230, 1922. — 15) *Neuberg* und *Tir*, diese Zeitschr. **32**, 329, 1911; *Neuberg* und *Kretschmer*, ebendaselbst **36**, 5, 1911. — 16) *Laquer* und *Paul Meyer*, H. **124**, 211, 1923. — 17) *Laquer* und *Griebel*, H. **138**, 148, 1924. — 18) *Willstätter* und *Sobotka*, H. **123**, 164, 1922. — 19) *Bergmann* und *Ludewig*, A. **436**, 173, 1924.

Gärung und Eisensalze.

Von

P. Hodel und N. Neuenschwander.

(Aus der physiologisch-chemischen Anstalt der Universität Basel.)

(Eingegangen am 19. Januar 1925.)

Mit 4 Abbildungen im Text.

Den Einfluß, den Eisensalze auf die alkoholische Gärung ausüben, zu studieren, hat doppeltes Interesse. Erstens ist es wichtig zu wissen, ob ein solch ganz allgemein und ständig im Organismus vorkommendes Element, wie das Eisen, auf den Kohlehydratabbau einwirken kann, und zweitens gibt uns das Eisen Gelegenheit, die Wirkung eines Elementes, das in zwei Oxydationsstufen auftreten kann, auf einen biologischen Vorgang zu studieren. Auf die verschiedene Wirkung der beiden Oxydationsstufen hat schon *W. Heubner*[1]) hingewiesen, der die Chlorose als einen Zustand des Organismus definierte, indem er die Fähigkeit eingebüßt hat, dreiwertiges Eisen in zweiwertiges zu reduzieren. Da die Bedeutung der freien Valenzen und der Nebenvalenzen für die Komplexbildung namentlich kolloider Systeme neuerdings vielfach zur Diskussion steht, veröffentlichen wir in aller Kürze die nachfolgenden Versuche, die einer größeren Arbeit mit allgemeinen Gesichtspunkten entstammen, an dieser Stelle zu Ehren *M. Cremers*, der ja gerade die Biochemie der Kohlehydrate so weitgehend gefördert hat.

Unsere Versuchsanordnung war einfach. Wir mischten Hefe, Glucose- und Eisensalzlösung in einem Reagenzglas, im ganzen immer 10 ccm, füllten rasch in ein Gärgläschen um und beobachteten die CO_2-Entwicklung bei einer Temperatur von 37°. Wir benutzten immer dreimal gewaschene Preßhefe.

Da wir die Wirkung der Ferro- und Ferriionen auf die Gärung studieren wollten, benutzten wir zunächst immer verdünnte Eisensalzlösungen von *Mohr*schem Salz bzw. Eisenalaun, also Eisensalzlösungen der beiden Oxydationsstufen, aber mit entsprechend gleichem Anion. Schon die ersten Tastversuche wiesen darauf hin, daß die

---

[1]) Therap. Monatsh. 26. Januar 1912.

Wirkung der Ferri- und Ferroionen auf die Gärung eine wesentlich verschiedene ist. Und zwar, wie dies sich im Laufe der Untersuchung zeigte, wirkte das Ferriion auf die Gärung stark hemmend ein, das Ferroion dagegen beeinflußte die Gärung nicht oder nur schwach, und dann meistens im Sinne einer geringen Beschleunigung auf die erste Phase der Gärung.

	6 ccm 50 proz. Hefe 1 ccm 7,5 proz. Glucose 3 ccm Wasser 10 ccm	6 ccm 50 proz. Hefe 1 ccm 7,5 proz. Glucose 1 ccm *Mohr*sches Salz m/6 2 ccm Wasser 10 ccm	6 ccm 50 proz. Hefe 1 ccm 7,5 proz. Glucose 1 ccm Eisenalaun m/6 2 ccm Wasser 10 ccm
ccm CO_2			
nach 40 Min.	3,4	3,5	0
nach 120 Min.	vergoren	vergoren	2,0

Versuche 11 und 16.

Zu 3 ccm 10proz. Hefe wurden 1 ccm 7,5proz. Glucose, 5 ccm Wasser, 1 ccm *Mohr*sches Salz bzw. Eisenalaun in steigender Verdünnung zugesetzt.

	m/4	m/6	m/9	m/13,5	m/20	Ohne Fe-Salz-Zusatz	Bemerkungen
ccm CO_2							
nach 80 Minuten	4,7	4,2	4,1	5,0	4,6	5,1	*Mohr*sches Salz (V. 11)
nach *17 Stunden*	0,4	1,4	1,35	3,25	5,4	—	Eisenalaun (V. 16)

Dieser Versuch zeigt, daß das Ferrosalz in den verschiedenen Konzentrationen gleich wirkt, d. h. keinen wesentlichen Einfluß auf die Gärung ausübt. Das Ferrisalz aber wirkt in konzentrierteren Lösungen stärker hemmend als in verdünnteren, d. h. seine hemmende Wirkung steigt in einem gewissen Intervall ziemlich genau proportional seiner Konzentration.

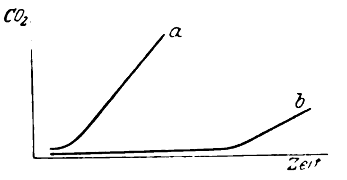


Abb. 1. Schema des Gärverlaufs. a) ohne Fremdsalzzusatz, bzw. mit Ferrosalzzusatz; b) mit Ferrisalzzusatz.

Wird die Konzentration der Ferriionen bei gleichbleibender Hefemenge noch mehr gesteigert, als es in diesen Versuchen angegeben ist, so nimmt die hemmende Wirkung nicht mehr wesentlich zu.

Bei der Zugabe von Ferrosalz zum Gärgemisch beobachteten wir eine kleine Induktionszeit[1]), wenige Minuten, bis die eigentliche Gärung begann, wie diese für die alkoholische Gärung auch ohne Fremdsalzzusatz allgemein bekannt ist; beim Zusatz von Ferrisalz aber beobachteten wir Induktionszeiten von vielen Stunden.

[1]) Diese Zeitschr. **154**, 235, 1924.

Versuch 26.

Dieser Versuch bildet gewissermaßen eine Parallele zum vorhin beschriebenen Versuch 16. Hier wurde bei sonst gleichbleibendem System nicht die Eisenalaunkonzentration verändert, sondern die Hefemenge.

Zu 1 ccm m/6 Fe-Alaunlösung, 1 ccm 7,5proz. Glucose, mit H_2O entsprechend auf 10 ccm aufgefüllt, wurde Hefe zugegeben:

	3 ccm 50 proz.	2 ccm 50 proz.	1 ccm 50 proz.	1 ccm 40 proz.	1 ccm 30 proz.	1 ccm 20 proz.	1 ccm 10 proz.
ccm CO_2 nach 18 Stunden . .	vergoren	3,4	0,25	0,4	0,15	0,10	0

Die hemmende Wirkung der Ferriionen macht sich um so mehr geltend, je weniger Hefe im System vorhanden ist, d. h. je größer die Hefemenge ist, desto rascher geht die Vergärung vor sich und desto rascher wird die „Vergiftung durch die Ferriionen" überwunden.

Auch in diesem Versuch beobachteten wir überall eine sehr lange Induktionszeit.

Versuche 27, 28 und 29.

In diesen Versuchen wurden Gärsysteme beobachtet, die bestanden aus immer der gleichen Glucosemenge und aus im gleichen Verhältnis abnehmenden Mengen von Hefe und Eisensalz.

	Hefe : Fe-Salz = 1:3			Hefe : Fe-Salz = 1:2			
Versuch 27.							
ccm 7,5 proz. Glucose	1	1	1	1	1	1	1
ccm 50 proz. Hefe	6	3	1,5	4	2	1	1,5
ccm m/6 Fe-Alaun	2	1	0,5	2	1	0,5	0,25
Mit H_2O bis auf 10 ccm aufgefüllt	1	5	7	3	6	7,5	7,25
ccm CO_2 nach $6^1/_2$ Stunden . .	5,6	1,4	0,4	3,0	1,2	0,1	0,05
Versuch 28.							
ccm 7,5 proz. Glucose	1	1	1	1	1	1	1
ccm 50 proz. Hefe	6	3	1,5	4	2	1	1,5
ccm m/6 *Mohr*sches Salz	2	1	0,5	2	1	0,5	0,25
Mit H_2O bis auf 10 ccm aufgefüllt	1	5	7	3	6	7,5	7,25
ccm CO_2 nach 40 Minuten . . .	3,5	2,7	1,0	4,1	2,9	0,3	0
Versuch 29.							
ccm 7,5 proz. Glucose	1	1	1				
ccm 50 proz. Hefe	6	3	1,5				
Mit H_2O bis auf 10 ccm aufgefüllt, ohne Fe-Salz-Zusatz	3	6	7,5				
ccm CO_2 nach 40 Minuten . . .	3,4	1,9	0,2				

Die CO_2-Entwicklung ist auch in Versuch 27 trotz dem sich gleichbleibenden Verhältnis von Hefe : Ferrisalz nicht gleich. Die Vergärungsgeschwindigkeit nimmt überall mit der Abnahme der absoluten Hefemenge ebenfalls ab. Wir finden somit kein stöchiometrisches Verhältnis zwischen Hefe und Ferrisalz.

Wenn wir den Gärverlauf der Versuche 27, 28 und 29 graphisch darstellen, indem wir die Zeit auf die Abszisse, die zugehörige CO_2-Menge auf die Ordinate abtragen, so erhalten wir folgende Kurven:

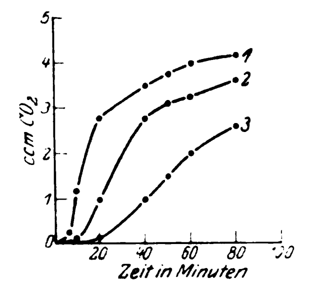


Abb. 2. 6 ccm Hefe (50 proz.). 2 ccm m/6 Fe-Alaun bzw. *Mohrsches* Salz bzw. ohne Salzzusatz. 1 ccm Glukose (7,5 proz.). Mit H_2O auf 10 ccm aufgefüllt.

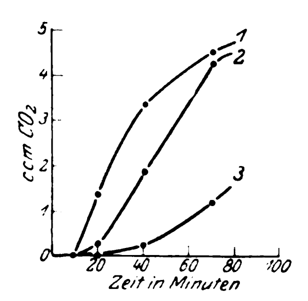


Abb. 3. 3 ccm Hefe. 1 ccm Eisensalz bzw. ohne Eisensalz. 1 ccm Glukose. Wasser.

Aus den Kurven in Abb. 2 und 3 ist ersichtlich, daß das Ferrosalz auf die erste Phase der Vergärung eine kleine Beschleunigung ausübt, d. h. die Induktionszeit etwas abkürzt.

In einer weiteren Versuchsreihe wurden die Konzentrationen aller Komponenten der Gärsysteme in bestimmtem Verhältnis verändert, zum Unterschied mit den vorhin beschriebenen Versuchen, in welchen wir die Glucosemenge immer konstant hielten.

Das Verhältnis von Hefe : Glucose : Fe-Salz (bzw. ohne Fe-Salz) war = 3 : 1 : 1 (bzw. 0).

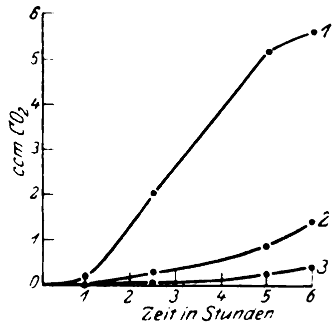


Abb. 4. 1,5 ccm Hefe. 0,5 ccm Eisensalz bzw. ohne Eisensalz. 1 ccm Glukose. Wasser.

Auch hier ergab sich, daß die Gärgeschwindigkeit mit der Abnahme der absoluten Menge Hefe und Glucose auch abnimmt. D. h. 1. bei gleichbleibendem Verhältnis Hefe : Glucose (: Fe-Salz) ändert sich die Gärgeschwindigkeit mit der Änderung der absoluten Konzentrationen, und 2. je größer die absolute Hefemenge ist, desto rascher wird die hemmende Wirkung der Ferriionen überwunden (wie wir dies auch aus früheren Versuchen ersahen).

Zu denselben Resultaten kamen wir in Versuchen, in denen wir zur fortwährenden gründlichen Durchmischung aller Komponenten des Gärgutes die Gärung in Rundkolben, die wir in die Schüttelmaschine einspannten, vor sich gehen ließen. Die Kölbchen waren mit einem Gasableitungsrohr versehen und das austretende Gas wurde in mit CO_2 gesättigtem Wasser gefüllten, graduierten Reagenzgläschen aufgefangen und seine Menge verfolgt.

Zum Vergleich mit der Glucosegärung machten wir auch Versuche mit Brenztraubensäure. An Stelle der Glucoselösung trat eine 10proz. Brenztraubensäurelösung (*C. Neuberg*). Den Einfluß, den Ferro- bzw. Ferrisalze auf die Brenztraubensäuregärung ausüben, ist in einem gewissen Intervall prinzipiell derselbe wie der auf die Glucosegärung; die Ferriionen hemmen die Gärung, die Ferroionen üben keinen wesentlich verschiebenden Einfluß aus.

Versuch 21.

	1 ccm Brenztraubensäure Wasser bis auf 10 ccm Lösung		1 ccm Brenztraubensäure 2 ccm m/4 Fe-Alaun Wasser bis auf 10 ccm Lösung		1 ccm Brenztraubensäure 2 ccm m/4 *Mohr*sches Salz Wasser bis auf 10 ccm Lösung	
	4 ccm 50 proz. Hefe	4 ccm 10 proz. Hefe	4 ccm 50 proz. Hefe	4 ccm 10 proz. Hefe	4 ccm 50 proz. Hefe	4 ccm 10 proz. Hefe
ccm CO_2 nach 60 Min. .	2,6	0,8	0,4	0	2,1	1,5

Von der Annahme ausgehend, daß die verschiedene Wirkung der Ferri- und Ferroionen auf die Gärung daher kommen könnte, daß eventuell die Hefe Ferriionen adsorbiert und dadurch in ihrer Gärwirkung gehemmt wird, nicht aber Ferroionen, machten wir folgende Versuche.

Wir schüttelten Hefe mit Ferrialaunlösung bzw. *Mohr*scher Salzlösung von vorher bestimmtem, genau bekanntem Eisengehalt. Wir verwendeten für die Versuche 3 ccm Hefe (50proz.) + 12 ccm Ferri- bzw. Ferrosalzlösung (m/12). Nach einer Stunde wurde zentrifugiert und in der obenstehenden klaren Lösung das Eisen zurückbestimmt. In zwei Proben fanden wir, daß der Eisengehalt sowohl im Ferrosystem wie im Ferrisystem nicht abgenommen hatte, in einer dritten Probe war eine geringe Abnahme des Eisengehaltes im Ferrisystem zu verzeichnen.

Wie wir gesehen haben, verursacht der Zusatz von Ferriionen eine sehr lange Induktionszeit. Da die Hefe als solche reduzierend wirkt, könnte man sich vorstellen, daß sie auf das Ferriion eine Reduktion ausübt und in das nicht hemmende, unschädliche Ferroion überführt und daß deshalb die Gärung nach langer Induktionszeit doch noch, allerdings langsamer, vor sich geht. Diesbezügliche von uns gemachte

Versuche haben allerdings bis jetzt noch keinen eindeutig zwingenden Entscheid erbracht.

Die verschiedene Wirkung der Ferri- und Ferroionen ließe sich aber auch damit erklären, daß die Ferri- und Ferroionen in anderer Weise mit der für das Zustandekommen einer alkoholischen Gärung notwendigen Phosphorsäure in Reaktion treten. Und zwar, wie bekannt ist und wie wir dies in eigenen Versuchen auch beobachten konnten, kann das Ferriion, wenn es im Überschuß da ist, mit dem Phosphation komplex reagieren und Ferriphosphatoanionen bilden[1]), nicht aber das Ferroion, d. h. das primär sich bildende Ferriphosphat löst sich im Überschuß von Ferrisalz, und dies war ja in unseren Gärversuchen immer der Fall, auf, unter Bildung von Phosphatoferriat. Das sich bildende Ferrophosphat löst sich aber nicht im Überschuß von Eisensalz; keine Komplexbildung. Beim Ferrosystem haben wir es somit mit einem Gleichgewicht von $Fe_3(PO_4)_2 \rightleftarrows Fe^{\cdot\cdot} + PO_4'''$ zu tun, im Ferrisystem dagegen in der Hauptsache mit einem Gleichgewicht von $(NH_4)_3[Fe(PO_4)_2] \rightleftarrows NH_4^{\cdot} + [Fe(PO_4)_2]'''$. Es ist somit anzunehmen, daß die Konzentration der PO_4-Ionen im System mit Ferrosalz größer bleibt (für die Gärung günstiger) als im System mit Ferrisalz; das Phosphation wird hier, wie wir gesehen haben, in einem komplexen Ferriphosphation gebunden, d. h. als solches verbraucht, was natürlich für das Zustandekommen der Gärung ungünstig wirkt. Besondere Versuche lehren uns endlich noch einwandfrei, daß nicht eine Beeinflussung der H-Ionen Konzentration die Ursache der Verschiedenheit von Ferro- und Ferrisalzwirkung sein kann.

Im weiteren wurden noch Versuche gemacht über die Wirkung verschiedener Ferrisalze. (In allen vorher mitgeteilten Versuchen handelte es sich immer um Ferrialaun.)

Versuch 25.

	1 ccm 10 proz. Brenztraubensäure 3 ccm 10 proz. Hefe 5 ccm Wasser 1 ccm m/4 Fe-Alaun	1 ccm 10 proz. Brenztraubensäure 3 ccm 10 proz. Hefe 5 ccm Wasser 1 ccm m/4 $FeCl_3$	1 ccm 10 proz. Brenztraubensäure 3 ccm 10 proz. Hefe 5 ccm Wasser 1 ccm m/4 $Fe(NO_3)_3$
ccm CO_2 nach 135 Min.	2,0	3,65	1,35

D. h. die Hemmung ist verschieden stark bei verschiedenem Anion; auch das Anion beeinflußt die Gärung. Und zwar wirkte Ferrinitrat stärker hemmend als Eisenalaun und Eisenalaun stärker als Ferrichlorid.

[1]) *Weinland*, Komplexverbindungen, S. 196 und 132.

Die Verdauung der Raupe der Kleidermotte (Tinea pellionella).

Von

Fr. N. Schulz.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Jena.)

(Eingegangen am 24. Januar 1925.)

Die Raupe der *Kleidermotte* (Tinea pellionella) gehört zu den wenigen Tieren, die von *Keratinsubstanzen* (Wollstoffe, Pelze) sich ernähren. Es ist zwar eine Erfahrung der Praxis, daß diese Raupen sich an Wollstoffen gern Stellen aussuchen, an denen fremde Stoffe (fettige Nahrungsreste, Harn) haften. Es gelingt aber auch, Mottenraupen auf entfetteter Wolle zu züchten, die fast ausschließlich aus Keratin, eventuell mit Pigmenten zusammen, besteht. Daß die Wollsubstanzen dabei eine weitgehende Zerstörung erfahren, ergibt sich aus der einfachen Beobachtung. Bei der schweren Angreifbarkeit der Haare durch chemische Zersetzung (findet man doch bei Exhumierung von Leichen oft genug außer einigen Resten großer Knochen völlig erhaltene Haarzöpfe) erhebt sich die Frage, ob neben der mechanischen Destruktion der Haare diese Raupen nicht etwa auf fermentativem Wege Keratinsubstanzen zu „verdauen" vermögen. Bei dem *hohen Schwefelgehalt* der *Keratinsubstanzen* wird man weiterhin fragen: Was wird aus dem Cystinkomplex? ferner: Wie verhalten sich die *Melaninsubstanzen*, die vielfach in das Keratingerüst der Haare eingeschlossen sind?

Daß diese Fragen so wenig Beachtung gefunden haben, liegt sicher daran, daß Mottenraupen schwer zu züchten sind, vor allem in physiologischen Laboratorien, deren Luft durch Chemikalien belastet ist. In unserem Institut haben wir jahrelang vergebens versucht, durch Auslegen von Wollstoffen eine Mottenkultur zu erhalten. *Sitowski*[1]) hat, offenbar mit gutem Erfolg, von den Eiern ausgehend, Raupen gezogen und diese Zucht bis zum Schmetterling fortgesetzt. Ihm verdanken wir eine systematische Untersuchung über die Biologie der Kleidermotten.

---

[1]) *M. L. Sitowski*, Biologische Beobachtungen über Motten. Anz. d. Akad. d. Wiss., S. 534—547. Krakau 1905.

An einem ausgespannten Kaninchenfell, das an der Luft getrocknet war, und lange Zeit an einer halbdunklen Stelle gelegen hatte, fand ich im Herbst vorigen Jahres eine große Anzahl Raupen der Kleidermotte (weit über 100). Die Haare des rein schwarzen Felles waren an ihren Wurzeln abgefressen, so daß sich die zunächst fast intakt erscheinende Haarmasse von der völlig kahl gefressenen Lederhaut abheben ließ. Eine größere Anzahl der Raupen wurde auf reine weiße Wolle in abgedeckte Bechergläser gebracht. Die auf dem Felle befindlichen Kotmassen wurden gesammelt.

Sitowski stellte ausdrücklich fest, daß die Raupen von einem Gemisch von Wolle und Baumwolle *nur die Wolle* wählten. Im Darminhalt fanden sich Reste von angebissenen und zum Teil aufgelösten Stücken von Haaren. Der Darm ist stets mit Nahrung erfüllt in fortschreitender Verdauung. Im *Enddarm* sammelt sich der *Kot* in Form von festen *höckerigen Kügelchen* von etwa $1/4$ bis $1/2$ mm Durchmesser. Es wird verhältnismäßig wenig Kot abgesondert. Durch Verfütterung von mit *Lackmus gefärbter Wolle* konnte *Sitowski* feststellen, daß die ersten gefärbten Kotpartikel nach *zwei Tagen* im äußersten Teile des Darms bemerkt werden konnten. *Sitowski* beschreibt, daß nach Verfütterung von mit Lackmus blau gefärbter Wolle im Chylusdarm die Reaktion sich als alkalisch erwies, erst in der Gegend des *Enddarms* in einem über zwei Segmente sich erstreckenden Abschnitt *wich die alkalische Reaktion der sauren.* Erst im Rektum war die Reaktion ausgesprochen sauer. Bei Verfütterung von mit *Kongorot* gefärbter Wolle blieb die Farbe *überall rot. Sitowski* schließt daraus, daß die saure Reaktion des Enddarms durch eine *organische Säure,* wahrscheinlich *Harnsäure,* die *Davy* schon 1846 bei Motten nachgewiesen hatte, bedingt sei. Da die Harnsäure aus den *Malpighi*schen Gefäßen stammt, so erklärte sich, daß *erst im Enddarm der Darminhalt sauer* werde. *Sitowski* selbst bekam mit dem „Kot" ausgesprochene *Murexidreaktion.* Im Kot fand er mikroskopisch eine Menge von Kristallen, „welche durch ihre Gestalt, Löslichkeit in Alkalien und doppelte Lichtbrechung ganz an die Kristalle der Harnsäure erinnern". Die Abbildungen, die *Sitowski* gibt, sind allerdings durchaus keine typischen Harnsäureformen, sondern sechsseitige Tafeln, die (es handelt sich nur um wiedergegebene Kontur) eher an Cystinkristalle denken lassen. Durch Verfüttern von mit *Stärkemehl* bestreuter Wolle stellte *Sitowski* fest, daß die *Stärkekörner* im wesentlichen *unverdaut* den *Darm passieren.* Nur an vereinzelten fanden sich schwache Korrosionserscheinungen. Im Kot der Raupen fand *Sitowski* vor allem *zerstückelte Haarzellen* als Nahrungsreste. Er schließt daraus, daß die Verdauung wenig energisch sei. Er nimmt an, daß die in den vertrockneten Haarzellen enthaltenen Fett- und Eiweißsubstanzen einen wesentlichen Bestandteil der Nahrung der Raupen ausmachen.

Den Umstand, daß eine „große Menge von Haarzellen in dem Kot abgeht", betrachtet *Sitowski* als ein Zeichen unvollkommener Verdauung. Ein „bedeutender Teil von Keratin, das den wichtigsten Teil der Nahrung bildet", gehe *unverbraucht* ab. Versuche, aus dem Raupendarm auf *Keratin* wirksames *Ferment* zu gewinnen, führten zu *keinem Ergebnis*.

Bei einer Nachprüfung konnte ich die Angaben *Sitowskis* im wesentlichen bestätigen, aber auch erweitern. Nach Verfütterung von mit Lackmus blau gefärbter Wolle konnte ich bestätigen, daß in dem ganzen Vorderdarm die Reaktion alkalisch blieb. Auch im Endabschnitt des Darmes konnte ich trotz Verwendung einer vorzüglichen Binokularlupe keine deutliche Veränderung der Farbe des Darminhalts beobachten. Die abgesetzten Kotkörnchen waren aber hellrot, einer beträchtlich sauren Reaktion entsprechend. Auch ich konnte beobachten, daß die ersten roten Kotkörner (bei Verfütterung von weißer Wolle sind die Kotkörner kreidig, rein weiß) erst nach mehreren Tagen abgeschieden wurden.

Von dem *Kaninchenfell* konnte ich etwa 1 g Kotkörner sammeln. Die Kotkörner waren in diesem Falle offenbar durch das schwarze *Haarpigment schwarz*.

Die *mikroskopische Betrachtung* ergab, daß tatsächlich die *Kotkörner* zum beträchtlichen Teile aus *Pigmentkörnchen* bestanden, die genau der Größe nach den Pigmentkörnern der von den Maden angefressenen Haare entsprachen.

Das Pigment dieser Kaninchenhaare lag in Form von kleinen Häufchen von Körnern in dem Innern der Haare, und zwar in so regelmäßigen Gruppen, daß eine Art Querstreifung des Haares zustande kommt, eine Leiterform, bei der die Sprossen und die Seitenbalken von der durchsichtigen (im polarisierten Lichte doppelbrechenden) Keratinsubstanz, die Lücken zwischen den Sprossen durch das schwarze Pigment dargestellt werden. Diese Pigmentballen sind noch in gleichen Gruppen zusammengeballt auch im Kote vorhanden.

Außerdem kann man erkennen, daß die Kotkörner zum beträchtlichen Teile aus kristallinischen Massen bestehen. Es handelt sich im wesentlichen um rundliche Körner, die doppelbrechend sind (Achsenkreuze), und zwar um Urate. Bei Zusatz von Salzsäure verschwinden diese Uratkugeln und es treten an ihre Stelle große, stark doppelbrechende Kristalle: Spindeln, Parallelogramme, vereinzelte sechsseitige Tafeln. Beim Erwärmen lösen sich diese Kristalle, beim Erkalten tritt wieder Kristallisation ein. Ihrer Löslichkeit nach stimmen diese Kristalle also mit Harnsäure überein.

Es wurden 0,2245 g Kot mehrfach mit kochendem Wasser ausgezogen. Der erste Auszug trübte sich beim Erkalten, und es schied sich ein dichter Niederschlag aus. Die späteren Auszüge blieben klar. Der ausgekochte

Rückstand bestand aus *schwarzen Pigmentkörnern.* Keratinreste konnte ich nicht sicher erkennen. Das Gewicht des Rückstandes betrug 0,064 g. Es waren also 0,16 g von dem verarbeiteten Kote in heißem Wasser in Lösung gegangen; also etwa drei Viertel. Der Rückstand bestand offenbar in der Hauptsache aus Pigment.

Ein ähnlicher Versuch mit Kot von *Raupen,* die auf *weißer,* pigmentfreier *Wolle* gefüttert waren, ergab, daß von 0,0404 g Kotkörnern nur ein nicht in heißem Wasser löslicher Rückstand von 0,00244 g blieb[1]).

Also es hinterblieben in diesem Falle *nur etwa 6 Proz.* Es handelte sich um den Kot von Larven, die mit lackmusgefärbter Wolle gefüttert waren. Die ausgekochten Kotkügelchen waren zum Teil durch Lackmusfarbstoff blauviolett, zum Teil farblos. Sie bestanden in der Hauptsache aus mehr oder weniger gut erhaltenen Haarzellen (spindelförmigen Rindenzellen).

Es stimmt hier also die Beobachtung mit *Sitowski* überein, während ich bei den anders gebauten Kaninchenhaaren keine Keratinreste sehen konnte. Die Menge des unverdauten Rückstandes ist aber im Verhältnis zu den eigentlichen Kotbestandteilen (in der Hauptsache Harnsäure) so gering, daß von einer *Schwerverdaulichkeit* der Keratinsubstanzen für diese Raupen keine Rede ist. Wenn man bedenkt, daß ein Gewichtsteil *Harnsäure* mit einem N-Gehalt von 33 Proz. etwa *zwei Gewichtsteilen Eiweiß* entspricht, so ist es klar, daß die Keratinsubstanzen der Haare sehr gut ausgenutzt worden sind, denn die Haare bestehen doch zum überwiegenden Teil aus Keratin. Andere Eiweißstoffe und Fette (vor allem bei entfetteter Wolle) treten an Masse völlig zurück. Wenn also diese Bestandteile erheblich als Nahrung der Larve ins Gewicht fielen, müßte der Kot überwiegend aus Keratinsubstanzen bestehen.

Daß die *Larven* ganz *einseitig* auf die Verdauung von *Keratinsubstanzen* eingestellt sein sollten, ist *nicht anzunehmen,* obschon sie ausgesprochene Spezialisten sind (Cellulose, Baumwolle, Papier werden z. B. nicht gefressen, wie *Sitowski* ausdrücklich feststellte). Ich habe die Beobachtung gemacht, daß die Zahl der Larven, die ich auf mit Lackmus gefärbter Wolle fütterte, rasch abnahm, trotzdem ich die Zuchtgefäße so dicht verschlossen hatte, daß ein Entweichen nicht möglich war. Bei der Untersuchung der Kotkörner fand ich hier eine ganze Anzahl gut erhaltener Chitinskelette von *Larvenköpfen,* aus denen aller Inhalt verschwunden war. Sonstige erkennbare Reste des Larvenkörpers fand ich nicht. Die Skelette der Larvenköpfe hatten etwa die *dreifache Größe der Kotballen.* Ich kann mir den Befund nicht

---

[1]) Die Wägungen wurden mit einer Mikrowage von der Firma „Spoerhase vorm. Staudinger u. Co. in Gießen", die die Notgemeinschaft der deutschen Wissenschaft zur Verfügung gestellt hatte, ausgeführt. Die Wage hat sich bestens bewährt.

anders erklären, als daß die Larven die Körper anderer Larven bis auf das Kopfskelett verzehrt haben. Ich glaube nicht, daß diese Kopfskelette den Darm passiert haben. Es scheint, als ob die mit Lackmus gefärbte Wolle für die Larven doch nicht so harmlos gewesen sei, wie *Sitowski* es annimmt. Bei Larven, die auf ungefärbter Wolle gezogen wurden, habe ich eine solche Beobachtung nicht gemacht.

Der in heißem Wasser lösliche Teil des Kotes besteht im wesentlichen aus *sauren harnsauren Salzen*, wie *Sitowski* richtig schließt. Der Heißwasserextrakt des Kotes *reagiert sauer* gegen *Lackmus*, nicht sauer gegen Kongorot (siehe *Sitowski*). Ein verdünnter Heißwasserextrakt, der beim Erkalten völlig klar bleibt, gibt beim Ansäuren mit etwas Salzsäure eine sofortige Kristallisation von *freier Harnsäure*. Die so gewonnene Harnsäure konnte durch die Kristallform, Löslichkeitsverhältnisse, sowie durch *prächtige Murexidprobe* identifiziert werden. Der Heißwasserextrakt enthält ziemliche Mengen von (mit Magnesiumoxyd abdestillierbarem) Ammoniak. Es konnten aus dem Heißwasserextrakt von 0,2245 g Kot (siehe oben) 5 mg N als Ammoniak abdestilliert werden. Die Gesamtstickstoffmenge dieses Heißwasserextrakts betrug **15 mg**. Es ist also die Möglichkeit vorhanden, daß die Harnsäure im wesentlichen als harnsaures Ammoniak vorgelegen hat.

Da die Haare einen *hohen Schwefelgehalt* haben, erhebt sich die Frage, was wird aus diesem Schwefel.

Eine Bestimmung des Melaninrückstandes des Kotes (siehe oben) ergab, daß in den 0,064 g des der Hauptmasse nach aus Melanin bestehenden Rückstandes sich 0,0032 g Schwefel vorfandén, was 5 Proz. *Schwefel* entspricht. Also ein für Melanin sehr hoher Schwefelgehalt.

Vielleicht bietet sich hier Gelegenheit, zu möglichst unverändertem Melanin zu gelangen. Die bisherigen Verfahren zur Darstellung von Melaninsubstanzen (insbesondere des Haarmelanins) beruhen auf der Anwendung starker Laugen und Säuren zur Entfernung anderer Stoffe, insbesondere der Keratinsubstanzen. Im Kot von Mottenlarven, die auf pigmentierten Haaren gezüchtet sind, liegt ein offenbar auf schonendste Weise gewonnenes Melanin vor.

Sitowski ist es nicht gelungen, wirksame Fermentlösungen aus Larven zu gewinnen. Ich selbst habe noch keine Versuche in dieser Richtung gemacht, da mir inzwischen das Material ausgegangen ist.

Versuche, im Heißwasserextrakt des Kotes *Cystin* (bzw. Cystein) durch *Bleischwärzung* nachzuweisen, waren *vergebens*. Man beobachtet zwar gelegentlich sechsseitige Tafeln, aber es erscheint sehr fraglich, ob es sich dabei um Cystin handelt.

In dem Heißwasserextrakt läßt sich direkt mit Bariumchlorid fällbare Schwefelsäure nachweisen. Aus den 0,2245 g Kot wurden 0,0017 g Schwefel erhalten. Nehmen wir für die Geamthaarmasse ein Ver-

hältnis von S:N wie 1:5 an, so entsprächen diese 1,7 mg S etwa 8 bis 9 mg Stickstoff. Man kann aus diesen Daten doch wohl entnehmen, daß die Hauptmasse des Cystinschwefels der Haare als einfaches schwefelsaures Salz ausgeschieden wird.

Ein Versuch, nach der Fällung mit Bariumchlorid bei neutraler (bzw. der durch harnsaure Salze bedingten schwach sauren) Reaktion durch Ansäuren mit Salzsäure und längeres Erwärmen einen weiteren Niederschlag von Bariumsulfat zu erzielen (*Ätherschwefelsäuren*), verliefen *negativ*.

Gesamt-S-Bestimmungen (nach *Liebig*) ergaben Werte, die mit den direkt gefundenen Schwefelsäurewerten übereinstimmten. Das Ergebnis dieser vorläufigen Untersuchungen läßt sich also dahin zusammenfassen:

1. Die Raupe der Kleidermotte nährt sich *im wesentlichen* von den *Keratin*substanzen der Haare.

2. Das hauptsächlichste N-haltige Endprodukt des Keratinstoffwechsels ist Harnsäure, die in der Hauptsache als *saures harnsaures Ammoniak* ausgeschieden wird.

3. Der *Cystinschwefel* der Keratinsubstanzen erscheint im wesentlichen als *schwefelsaures Salz.*

4. Das *Melanin* der Haare passiert den Darm ohne sichtbare Veränderungen. Es dürfte auf diese Weise gelingen, schonend zu reinem Melanin zu kommen. Ein solches *Melaninpräparat* enthielt *5 Proz. Schwefel.*

Die ernährungsphysiologische Bedeutung der Mikroorganismen in den Vormägen der Wiederkäuer.

Von

Carl Schwarz.

(Nach Versuchen von *H. Steinlechner.*)

(Aus dem physiologischen Institut der Tierärztlichen Hochschule in Wien.)

(Eingegangen am 24. Januar 1925.)

Bereits der anatomische Bau des mehrhöhligen Magens der Wiederkäuer weist darauf hin, daß die zumeist aus krautartigen Pflanzenteilen bestehende Nahrung einer Vorbereitung unterzogen werden muß, bevor sie der Wirkung des Magensaftes unterworfen wird. Diese besteht im Pansen und in der Haube in einer Reihe noch nicht ganz geklärter chemischer Prozesse, die im wesentlichen Gärungs- und Fäulnisvorgänge darstellen, durch welche nach der allgemein herrschenden Ansicht Zellulose aufgeschlossen wird; dadurch werden einerseits die wertvollen, in den Zellen eingeschlossenen Nährstoffe der Verdauung zugänglich gemacht und andererseits die Zellulose selbst, zum Teil wenigstens, in verwertbare Spaltprodukte übergeführt.

Diese Aufschließung erfolgt in erster Linie durch die Mitwirkung der von außen hineingelangten Mikroorganismen verschiedenster Art, welche durch ihren Lebensprozeß die Verwertung einzelner Futterstoffe befördern, vielleicht sogar erst überhaupt ermöglichen. Zellulosegärung und Fäulnisprozesse, darunter auch Eiweißfäulnisprozesse, als Ausdruck der Tätigkeit der Mikroorganismen sind sichergestellt. Doch mit diesen Prozessen erscheint die Funktion der Mikroorganismen nicht erschöpft.

Gruby und *Delafond*[1]) haben bereits im Jahre 1843 der Meinung Ausdruck gegeben, daß den Infusorien auch eine besondere Bedeutung als Nährstoffquelle zukommen könnte, eine Ansicht, die auch von *Colin*[2]) einige Jahre später ausgesprochen wurde. Die von *Weiske*[3]) und seinen

---

[1]) Rec. de Med. Vet. Pratique **20**, 1843.

[2]) Ebendaselbst **26**, 1849.

[3]) Zeitschr. f. Biol. **15**, 1879; vgl. auch *Völtz*, Landwirtsch. Jahrb. **38**; *Morga*, Festschrift zur Feier des 100jährigen Bestehens der Landwirtschaftlichen Hochschule Hohenheim. Stuttgart 1918.

Schülern erhobenen Befunde, daß das Amid der Aminobernsteinsäure, das Asparagin, als Stickstoffquelle vom Wiederkäuer verwertet werden kann, war der erste experimentell sichergestellte Anhaltspunkt für die von *Gruby* und *Delafond* vertretene Anschauung. Diese Resultate wurden später von *M. Müller*[1]) bestätigt und auch auf Ammoniaksalze ausgedehnt; die auf diesem Wege gewonnenen Eiweißmengen weisen, wie dieser Autor sich ausdrückt, „auf eine ganz beträchtliche Eiweißfabrikation hin, die wahrscheinlich die ganze Ernährung mehr oder weniger günstig zu beeinflussen vermag". Auch *N. Zuntz*[2]) hat bereits im Jahre 1891 eine ähnliche Ansicht geäußert, indem er annahm, daß Amide über den Umweg der Assimilation durch Mikroorganismen vom Wiederkäuer verwertet werden können, eine Auffassung, die auch von *Hagemann*[3]) vertreten wurde. Auch *Liebetanz*[4]), dem wir eine ausgezeichnete Untersuchung über die Infusorien in den Vormägen der Wiederkäuer verdanken, ist gleichfalls der Meinung, daß die Mikroorganismen als Nährstoffquelle bei den Wiederkäuern sehr in Betracht zu ziehen sind. Er schließt sich damit der Ansicht *Eberleins*[5]) an, der im Jahre 1895 die gleiche Meinung geäußert hat. Im Jahre 1920 hat *Völtz*[6]) ausgedehnte Untersuchungen über den Ersatz des Nahrungseiweißes durch Harnstoff beim wachsenden Wiederkäuer veröffentlicht und ist auf Grund seiner Versuche zu dem Ergebnis gelangt, daß der Harnstoff geeignet ist, die Rolle des Nahrungseiweißes im Stoffwechsel der Wiederkäuer zu übernehmen, indem der Harnstoff im Verdauungstrakt zunächst zu Bakterieneiweiß aufgebaut wird, das dann vom Darme zu 80 bis 90 Proz. resorbiert wird.

Die Annahme, daß die Mikroorganismen eine Nährstoffquelle bilden, hat zur Voraussetzung, daß diese auch in erheblichen Mengen im Inhalt des Pansens und der Haube gefunden werden. Darüber liegen nun keine Angaben vor; die Schätzungen schwanken zwischen einigen Grammen und einigen Kilogrammen im Panseninhalt des Rindes.

Scheunert[7]) glaubt nur unbedeutende Mengen annehmen zu dürfen, weshalb er die Infusorien als harmlose Kommensalen aufgefaßt wissen will, welche durch ihre Mitwirkung bei der Quellung, Mazeration und Durchmischung des Panseninhaltes in erster Linie mechanische Arbeit leisten, eine Anschauung, die auch von *Bündle*[8]) vertreten wurde.

Unserer Meinung nach ist die im Panseninhalt vorhandene Infusorien- und Bakterienmenge nicht unerheblich; es erscheint daher nicht ausgeschlossen, daß diese Mikroorganismen, wie bereits früher von den oben genannten Autoren für möglich gehalten wurde, eine

---

[1]) Pflügers Arch. **112**, 1906.
[2]) Ebendaselbst **49**, 1891.
[3]) Landwirtsch. Jahrb. **20**, 1891.
[4]) Arch. f. Parasitenkde. **19**, 1910.
[5]) Zeitschr. f. wissensch. Zool. **49**, 1895.
[6]) Diese Zeitschr. **102**, 1920.
[7]) Oppenheimers Handb. d. Biochem. **8**, 2; vgl. auch *Biedermann* in Wintersteins Handb. d. vergl. Physiol. **2**, 1.
[8]) Zeitschr. f. wissensch. Zool. **60**, 1895.

bedeutsame Nahrungsquelle für die Wiederkäuer darstellen. wodurch zum Beispiel die in den Pflanzen vorkommenden Amide und die tiefen, durch Bakterientätigkeit erhaltenen Eiweißspaltprodukte in einer wieder verwertbaren Form als Infusorienprotoplasma gestapelt werden. Von diesem Gesichtspunkt aus haben wir es unternommen, die Stickstoffverteilung im Panseninhalt des Rindes nach Heufütterung festzustellen, wobei der Versuch gemacht wurde, vor allem über die auf Mikroorganismen (Infusorien und Bakterien) entfallenden Stickstoffmengen quantitative Anhaltspunkte zu gewinnen.

Wenn im folgenden über derartige Versuche berichtet wird, so soll gleich hier vorweggenommen werden, daß wir das gefundene Zahlenmaterial als nicht in jeder Hinsicht einwandfrei betrachten können, da es ja unmöglich erscheint, irgendwelche Futtermittel bakterien- oder infusorienfrei zu waschen. Die für Bakterien und Infusorien gefundenen Stickstoffwerte werden daher im allgemeinen als zu niedrig zu bezeichnen sein, eine Tatsache, welche jedoch an den Ergebnissen der Untersuchung nichts ändern dürfte. Immerhin werden die zahlreichen Versuche, welche durch ihre übereinstimmenden Resultate uns selbst überrascht haben, unsere Ansicht von der Bedeutung der Mikroorganismen bei der Verwertung von pflanzlichen Futtermitteln erhärten.

Die folgenden Untersuchungen wurden mit dem Panseninhalt von Schlachttieren ausgeführt, der gleich nach der Schlachtung den Tieren entnommen wurde. Die Weiterentwicklung der Mikroorganismen wurde durch Zusatz von Chloroform gehemmt. Das Futter der Schlachttiere bestand in den der Schlachtung vorhergehenden Tagen ausschließlich aus minderwertigem Heu.

Bei der Untersuchung wurde folgender Weg eingeschlagen. Der frisch entnommene Panseninhalt wurde gleichmäßig durchmischt und davon eine gewogene Menge zur Untersuchung verwendet. Diese wurde reichlich mit Wasser versetzt und durch eine Nutsche mit mehrfacher Papierfilterlage filtriert. Der Filterrückstand wurde gewaschen und das Waschwasser mit dem Filtrat vereinigt. Der Filterrückstand enthielt die Futterreste samt den Infusorien. Die Bakterien haben zum größten Teile das Filter passiert, während die Infusorien durch dieses zurückgehalten wurde, wie wir uns durch die mikroskopische Untersuchung des Filtrats überzeugen konnten; der Filterrückstand wurde getrocknet und sein N-Gehalt nach *Kjeldahl* bestimmt. Das Filtrat, welches die gelösten Stoffe und den größten Teil der Bakterien enthielt, wurde auf ein bestimmtes Volumen gebracht, in dem der N-Gehalt gleichfalls nach *Kjeldahl* bestimmt wurde. Hierauf wurde ein aliquoter Teil des Filtrats durch ein Bakterienfilter nach *Reichl* geschickt und in diesem Filtrat gleichfalls die

N-Bestimmung durchgeführt. Auf diese Weise wurde der Gesamt-N-Gehalt des Panseninhalts auf die Futtereste + Infusorien, auf gelöste Stoffe und auf Bakterien aufgeteilt.

Da es weder durch eine Kolier- noch durch eine Filtriermethode möglich war, die Infusorien von den Futterresten zu trennen, so wurde der Versuch gemacht, durch die Verdauung der abgetöteten Infusorien mit Hilfe von Pepsin-Salzsäure diese von den Futterresten zu trennen. Es lag nämlich die Vermutung nahe, daß das Infusoriumeiweiß vom Pepsin leichter angegriffen werde, als das der Futterreste. Zu diesem Zwecke wurde der gewaschene Filterrückstand nach dem ersten Abnutschen mit Wasser versetzt, zur Tötung der Mikroorganismen einmal aufgekocht, abkühlen gelassen, dann mit Salzsäure und Pepsin versetzt, und bei 37° C im Brutschrank durch 20 Stunden der Verdauung überlassen. Der Wert des hierbei in Lösung gegangenen Stickstoffs entsprach der auf die Infusorien entfallenen N-Menge in der Voraussetzung, daß die Futterreste von der Pepsin-Salzsäure nicht gespalten wurden. Um die Richtigkeit dieser Vermutung zu prüfen, wurden zur Kontrolle 200 g frischer, gut durchmischter Panseninhalt in ein Tüllsäckchen gebracht und mit einer großen Menge Wasser mehrmals unter Kneten so gut wie möglich frei von Infusorien und Bakterien gewaschen, sodann mit Wasser versetzt, einmal aufgekocht, abkühlen gelassen und nach Zusatz von Pepsin-Salzsäure gleichfalls durch 20 Stunden der Verdauung unterworfen. Die so von Mikroorganismen möglichst befreiten Futterreste aus 200 g Panseninhalt ergaben bei:

	In Lösung gegangener Stickstoff
Versuch 1 nach 20 Stunden Verdauung	3,92 mg
„ 2 „ 20 „ „	2,37 „
„ 3 „ 20 „ „	4,43 „

Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß bei Verdauung von 200 g Panseninhalt der in Lösung gegangene Stickstoff selbst nach 20stündiger Verdauung nicht viel mehr als 4 mg betragen hat, während die gleiche Menge Panseninhalt, der noch die Infusorien enthielt, unter den gleichen Bedingungen, wie aus den folgenden Versuchsprotokollen zu entnehmen ist, 38 bis 58 mg Stickstoff in Lösung gehen ließen. Dieser Befund machte es fast zur Gewißheit, daß die Futterreste aus dem Panseninhalt durch Pepsin-Salzsäure kaum angegriffen werden und die kleinen Mengen des bei der Verdauung in Lösung gegangenen Stickstoffs wohl auf Infusorien- und Bakterieneiweiß zu beziehen sein wird. Sämtliche Stickstoffbestimmungen wurden als Doppelbestimmungen ausgeführt und die gefundenen Werte auf die Menge des Ausgangsmaterials umgerechnet.

Um einen weiteren Einblick in die Stickstoffverteilung zu erhalten, wurde in einzelnen Proben auch der Versuch gemacht, die

Stickstoffverteilung innerhalb des gelösten Teiles des von Infusorien und Bakterien befreiten Panseninhalts (nach Filtration durch ein Bakterienfilter) vorzunehmen. Es wurde bestimmt: Der koagulable Stickstoff, in dem ein Teil des Bakterienfiltrats mit Essigsäure angesäuert und unter Zusatz von Kochsalz aufgekocht wurde. Der Niederschlag wurde abfiltriert, gewaschen und in einem aliquoten Teile des Filtrats der Stickstoff nach *Kjeldahl* bestimmt. Ein Teil dieses Filtrats wurde dann mit Schwefelsäure angesäuert, mit 20proz. Phosphorwolframsäure gefällt, der Niederschlag abfiltriert, gewaschen und der Stickstoffgehalt des Filtrats bestimmt. Durch diese Fällungen konnten einerseits der koagulable Stickstoff, andererseits die durch Phosphorwolframsäure fällbare Stickstofffraktion und die durch Phosphorwolframsäure nicht mehr fällbare Fraktion voneinander getrennt werden. Endlich wurde auch ein Teil des Bakterienfiltrats dazu verwendet, um den formol-titrierbaren Aminostickstoff nach *Henriques-Sörensen* festzustellen. Die Formoltitration hat nur negative Resultate ergeben, ebenso wie die Ammoniakbestimmung nach *Krüger-Reich-Schittenhelm*. Die folgenden Tabellen geben ein übersichtliches Bild über die erhaltenen Resultate.

	mg N	Proz.
Versuch 1. 3. April 1924. 400 g Panseninhalt, stark flüssig.		
Gesamtstickstoff in 400 g Panseninhalt	668,8	—
Davon: 1. Gelöste Stoffe	78,8	11,7
2. Bakterien	116,6	17,5
3. Unverdaute Futterstoffe u. Infusorien	473,4	70,8
Versuch 2. 7. April 1924. 400 g Panseninhalt, dickflüssig.		
Gesamtstickstoff in 400 g Panseninhalt	837,1	—
Davon: 1. Gelöste Stoffe	61,3	7,3
2. Bakterien	68,3	8,1
3. Unverdaute Futterstoffe u. Infusorien	707,5	84,6
Versuch 3. 10. April 1924. 400 g Panseninhalt, ziemlich flüssig.		
Gesamtstickstoff in 400 g Panseninhalt	480,7	—
Davon: 1. Gelöste Stoffe	40,3	8,3
2. Bakterien	58,1	12,1
3. Unverdaute Futterstoffe u. Infusorien	382,3	79,6
Versuch 4. 14. April 1924. 400 g Panseninhalt.		
Gesamtstickstoff in 400 g Panseninhalt	427,6	—
Davon: 1. Gelöste Stoffe	36,7	8,7
2. Bakterien	47,6	11,1
3. Unverdaute Futterstoffe u. Infusorien	343,3	80,2
Versuch 5. 23. April 1924. 400 g Panseninhalt.		
Gesamtstickstoff in 400 g Panseninhalt	539,5	—
Davon: 1. Gelöste Stoffe	42,9	8,0
2. Bakterien	58,7	10,8
3. Unverdaute Futterstoffe u. Infusorien	437,9	81,2

	mg N	Proz.
Versuch 6. 26. April 1924. 400 g Panseninhalt, dickflüssig.		
Gesamtstickstoff in 400 g Panseninhalt	334,8	—
Davon: 1. Gelöste Stoffe	21,1	6,9
2. Bakterien	40,0	11,9
3. Unverdaute Futterstoffe u. Infusorien	271,7	81,2

In den gelösten Stoffen Aminostickstoff = 0.

	mg N	Proz.
Versuch 7. 29. April 1924. 400 g Panseninhalt, ziemlich flüssig.		
Gesamtstickstoff in 400 g Panseninhalt	600,8	—
Davon: 1. Gelöste Stoffe	57,8	9,6
2. Bakterien	62,7	10,4
3. Unverdaute Futterstoffe u. Infusorien	480,3	80,0

In den gelösten Stoffen Aminostickstoff = 0.

	mg N	Proz.
Versuch 8. 2. Mai 1924. 400 g Panseninhalt, dickflüssig.		
Gesamtstickstoff in 400 g Panseninhalt	569,4	—
Davon: 1. Gelöste Stoffe	35,9	6,2
2. Bakterien	53,4	9,3
3. Unverdaute Futterstoffe u. Infusorien	480,1	84,4

In den gelösten Stoffen: Aminostickstoff = 0; unkoagulierbare Substanzen 31,8 mg N = 5,4 Proz., koagulierbare Substanzen 41,4 mg N = 7,2 Proz. des Gesamtstickstoffs.

	mg N	Proz.
Versuch 9. 5. Mai 1924. 400 g Panseninhalt, stark flüssig.		
Gesamtstickstoff in 400 g Panseninhalt	411,0	—
Davon: 1. Gelöste Stoffe	39,4	9,6
2. Bakterien	53,6	13,0
3. Unverdaute Futterstoffe u. Infusorien	318,0	77,4

In den gelösten Stoffen: Aminostickstoff = 0; koagulierbare Substanzen 7,2 mg N = 1,8 Proz. des Gesamtstickstoffs.

	mg N	Proz.	
Versuch 10. 8. Mai 1924. 400 g Panseninhalt, ziemlich flüssig.			
Gesamtstickstoff in 400 g Panseninhalt	547,8	—	
Davon: 1. Gelöste Stoffe	52,5	9,6	
2. Bakterien	67,4	12,3	
3. Infusorien	117,8	21,5	78,1
4. Unverdaute Futterstoffe	310,0	56,6	
Versuch 11. 12. Mai 1924. 400 g Panseninhalt, dickflüssig.			
Gesamtstickstoff in 400 g Panseninhalt	416,2	—	
Davon: 1. Gelöste Stoffe	37,8	9,1	
2. Bakterien	49,7	12,0	
3. Infusorien	84,6	20,3	78,9
4. Unverdaute Futterstoffe	244,1	58,6	
Versuch 12. 15. Mai 1924. 400 g Panseninhalt, dickflüssig.			
Gesamtstickstoff in 400 g Panseninhalt	426,1	—	
Davon: 1. Gelöste Stoffe	36,4	8,5	
2. Bakterien	49,0	11,5	
3. Infusorien	77,8	18,3	80,0
4. Unverdaute Futterstoffe	262,9	61,7	

Zu Versuch 12. In den gelösten Stoffen: Aminostickstoff = 0; koagulierbare Substanzen 3,3 mg N = 0,8 Proz., durch Phosphorwolframsäure fällbare Substanzen 5,1 mg N = 1,2 Proz., durch Phosphorwolframsäure nicht fällbare Substanzen 28,0 mg N = 6,5 Proz. des Gesamt-stickstoffs.

Überblickt man vorstehende Versuchsergebnisse, so ist zunächst die ungemein gute Übereinstimmung der Resultate in sämtlichen Versuchen in die Augen springend. Zieht man das Mittel aus den gefundenen Zahlen, so entfallen im Durchschnitt auf den in Lösung befindlichen Stickstoff 8,6 Proz., auf den Bakterienstickstoff 11,7 Proz. und auf den Futterrest + Infusorienstickstoff 79,7 Proz. vom Gesamt-N-Gehalt des Panseninhalts. Die Abweichungen von diesen Durchschnittszahlen sind in den einzelnen Versuchen unbedeutend.

Auffallend ist, daß der Bakterienstickstoff 11,7 Proz. des Gesamt-N-Gehalts des Panseninhalts ausmacht. Betrachtet man nun die Stickstoffmengen, welche in den Versuchen 10 bis 12 auf die Infusorien entfallend gefunden wurden, so ergibt sich hierfür ein Mittelwert von 20 Proz., d. h., daß aller Wahrscheinlichkeit nach 20 Proz. des gesamten N-Gehalts des Panseninhalts in den Infusorien aufgestapelt sind, bzw. daß 31,7 Proz. des gesamten N-Gehalts des Panseninhalts auf Mikroorganismen (Bakterien und Infusorien) zu beziehen sind. Diese Zahlen, die aller Wahrscheinlichkeit eher etwas höher anzunehmen sind, gewinnen erst an Bedeutung, wenn man sich über die absoluten Werte der im Pansen vorhandenen Stickstoffmenge Rechenschaft gibt. Aus vorstehenden 12 Versuchen sind im Durchschnitt 1,3 g Stickstoff in 1000 g Panseninhalt gefunden worden, von denen 0,11 g auf den in Lösung befindlichen Stickstoff, 0,41 g auf Bakterien- und Infusorienstickstoff und der Rest von 0,76 g auf den N-Gehalt der Futterreste entfallen.

Nach *Nicole* und *Alitaire*[1]) beträgt der N-Gehalt lufttrockener Bakterien im Durchschnitt 2,11 Proz., während der von Infusorien nach der einzigen in der Literatur aufgefundenen Angabe von *Th. Panzer*[2]) mit 1,25 Proz. angegeben wird. Legen wir diesen Angaben unsere Berechnung für die absoluten Mengen der Mikroorganismen zugrunde, so ergibt sich bei Annahme eines Durchschnitts-N-Gehalts des frischen Panseninhalts von 0,13 Proz. für die Bakterien 7,5 g und für die Infusorien 20,8 g in einem Kilogramm frischen Panseninhalts. In 100 kg Panseninhalt müßten demnach 2,79 kg Mikroorganismen vorhanden sein.

Wenn man nun bedenkt, daß in diesen 2,79 kg Mikroorganismen 41 g Stickstoff, entsprechend 256 g Eiweiß vorhanden sind, die nach der Ansicht *Völtz* zu 80 bis 90 Proz. ausgenutzt werden können, so haben wir in den Mikroorganismen eine Eiweißmenge gestapelt, die sehr wohl bei der Deckung des Eiweißbedarfs eines Rindes in Betracht gezogen werden muß, zumal der Eiweißbedarf bei den Wiederkäuern mit etwa 0,6 g pro Kilogramm Tier und 24 Stunden angenommen wird. Auf Grund dieser Überlegungen erscheint es sogar nicht un-

[1]) Zitiert nach *Kruse*, Allgemeine Mikrobiologie.
[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 73, 1911; 86, 1913.

wahrscheinlich, daß der größte Teil des Eiweißbedarfs der Wiederkäuer auf den Umweg über Mikroorganismen — Eiweiß, in das der Pflanzenstickstoff im Pansen umgewandelt wird, verwertet wird. Die Bedeutung dieses Umwegs des Pflanzenstickstoffs darzulegen, ist einer Erklärung nicht unzugänglich, wenn man sich vergegenwärtigt, daß die Gärungs- und Fäulnisprozesse im Pansen nicht in dem Moment halt machen, in dem ihre Spaltprodukte vom Wiederkäuerorganismus noch verwertet werden können, sondern weiter fortschreiten, so daß diese einfacheren Spaltprodukte nicht mehr vom Wiederkäuerorganismus, wohl aber von gewissen Mikroorganismen zum Aufbau ihrer Leibessubstanz verwertet werden können; dies gilt sicherlich ebenso für die N-haltigen wie auch für die N-freien Nahrungsstoffe, vor allem aber auch für die vom Wirbeltierorganismus im allgemeinen nicht verwertbaren N-haltigen, jedoch nicht eiweißartigen Körper. Bei dieser Auffassung der Vorgänge im Panseninhalt ist auch der Gedanke nicht von der Hand zu weisen, daß gewissen Mikroorganismen in erster Linie die Aufspaltung der Nahrungsstoffe zukommt, während andere die Assimilation der Spaltprodukte zu eigener Körpersubstanz als Hauptaufgabe zu erfüllen haben.

Außerdem erfolgt durch diese Überführung der pflanzlichen Rohproteine in Mikroorganismeneiweiß anscheinend auch eine Konzentrierung des verdaulichen Eiweißes, während nämlich mittleres Wiesenheu im Durchschnitt nur 3 Proz. verdauliches Eiweiß enthält, müssen die Mikroorganismen unter der Annahme, daß die vorliegenden Angaben über ihren N-Gehalt richtig sind, und in der Voraussetzung, daß das Mikroorganismeneiweiß entsprechend den Angaben von *Völtz* resorbierbar ist, 7,4 bis 8,3 Proz. verdauliches Eiweiß enthalten. Daß durch eine solche Konzentrierung des verdaulichen Eiweißes im Pansen seiner weiteren Verwertung im Magen-Darmtrakt Vorteile erwachsen, steht wohl außer jeden Zweifel.

Unsere Befunde sprechen daher in Übereinstimmung mit den von *Weiske*, *Müller* und *Völtz* gefundenen Tatsachen zugunsten der Auffassung, daß den Mikroorganismen in den Vormagen der Wiederkäuer eine sehr erhebliche, wenn nicht die ausschlaggebende Bedeutung als Nahrungsquelle zukommt; dafür sprechen nicht nur die bedeutenden N-Mengen, welche in unseren Versuchen in den Mikroorganismen gespeichert gefunden wurden, sondern auch die Tatsache, daß die Futterreste und wahrscheinlich auch das in unseren Versuchen zur Fütterung verwendete Heu kaum von der Pepsin-Salzsäure angegriffen wird. Ein tieferer Einblick in diese Verhältnisse wird erst gewonnen werden, wenn auch die N-Verteilung im Psalterinhalt unter den gleichen Versuchsbedingungen festgelegt sein wird. Untersuchungen darüber sind bereits im Gange.

Über Ammoniakbildung im Nervensystem.

Von

Hans Winterstein und Else Hirschberg.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Rostock.)

(Eingegangen am 25. Januar 1825.)

Vor etwa 7 Jahren haben wir Untersuchungen über den Stickstoffumsatz des isolierten Froschrückenmarks veröffentlicht[1]), in denen zum ersten Male eine starke Beteiligung N-haltiger Substanzen an dem Ruhe- vor allem aber dem Reizstoffwechsel der nervösen Zentralorgane nachgewiesen wurde. Später wurde gezeigt[2]), daß analoge Umsetzungen in geringerem Umfang sich auch im peripheren Nerven abspielen. Aus der gleichartigen Beeinflussung, die der Umsatz N-haltiger, fettartiger und P-haltiger Substanzen durch Zufuhr verschiedener Stoffe erfuhr, ergab sich mit Sicherheit, daß der N-Verbrauch zum Teil in dem Umsatz von Phosphatiden bestehen muß[3]). Über die Natur der N-haltigen Stoffwechselendprodukte, auf deren Abgabe der beobachtete N-Verlust beruht, konnte zunächst nichts ausgesagt werden. Inzwischen hat *Tashiro*[4]) nachgewiesen, daß der Froschnerv eine flüchtige basische Substanz ausscheidet, die kaum etwas anderes als *Ammoniak* sein kann. Es gelang ihm, mit sehr minutiöser Technik die Größe dieser Ammoniakausscheidung zu messen und ihre bedeutende Steigerung bei Reizung der Nerven festzustellen. Damit war eines der N-haltigen Ausscheidungsprodukte erkannt.

Die folgenden Versuche hatten den Zweck, *Tashiros* Untersuchungen am peripheren Nerven nachzuprüfen, zu erweitern und auf das Zentralnervensystem auszudehnen.

---

[1]) *E. Hirschberg* und *H. Winterstein*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **101**, 212, 1918.

[2]) *Dieselben*, ebendaselbst **108**, 27, 1919.

[3]) *Dieselben*, ebendaselbst **105**, 1, 1919; **108**, 10 u. 21, 1919; *E. Hecker* und *H. Winterstein*, ebendaselbst **129**, 205, 1923.

[4]) *S. Tashiro*, Amer. Journ. Physiol. **60**, 519, 1922.

A. Methodik.

Tashiro verfuhr in der Weise, daß er die Nerven (Ischiadici von Rana pipiens) über sehr verdünnter Schwefelsäure aufhing und das von dieser aufgenommene Ammoniak durch Titration oder nach Zusatz von *Graves'* Reagens (s. unten) nephelometrisch bestimmte (das letztere Verfahren erwies sich als weniger zuverlässig und lieferte nur etwa halb so hohe Werte). Da die Versuchsdauer stets nur 15 bis 20 Minuten betrug, waren ganz besondere (im Original nachzulesende) Vorsichtsmaßregeln und technische Maßnahmen erforderlich, um bei den winzigen absoluten Mengen, um die es sich hier handelte (Bruchteile von Millionstel Gramm!), einigermaßen zuverlässige Resultate zu erhalten. Da das Nervensystem des Frosches unter geeigneten Bedingungen seine Funktionsfähigkeit viele Stunden konstant erhält, sahen wir keine Veranlassung, so kurz dauernde Versuche anzustellen, sondern dehnten diese, wie in den bisherigen Stoffwechseluntersuchungen, über eine Reihe von Stunden aus. Dadurch konnte eine wesentliche Vereinfachung der Methodik erzielt werden.

a) *Untersuchung in gasförmigem Medium.*

Der zu untersuchende Teil des Nervensystems wird in einem Erlenmeyerkölbchen über 3 ccm n/1000 H_2SO_4 + 1 ccm Indikator (s. unten) aufgehangen. Am Schlusse des Versuchs wird das von der H_2SO_4 aufgenommene NH_3 entweder direkt durch Zurücktitrieren mit n/1000 NaOH bestimmt, nachdem die CO_2 durch mehrere Minuten dauerndes Kochen ausgetrieben wurde, oder aber das NH_3 wird nach Überneutralisieren durch NaOH-Zusatz in ein mit n/1000 H_2SO_4 beschicktes Vorlagekölbchen überdestilliert und in diesem durch Zurücktitrieren mit n/1000 NaOH bestimmt.

b) *Untersuchung in flüssigem Medium.*

Bei diesem Verfahren, das aus später zu erörternden Gründen in der überwiegenden Mehrzahl der Versuche angewandt wurde, liegt der zu untersuchende Teil des Nervensystems in einem Kölbchen mit doppelt durchbohrtem Stopfen in 3 ccm physiologischer Kochsalzlösung, durch die kontinuierlich Sauerstoff, der eine H_2SO_4-Waschflasche passiert hat, hindurchperlt. Dieser O_2-Strom geht weiter durch ein mit 3 ccm n/1000 H_2SO_4 + 1 ccm Indikator beschicktes Vorlagekölbchen, in welchem das mitgeführte Ammoniak zur Absorption gelangt. Am Ende des Versuchs wird das Organ aus der Lösung herausgenommen und zu dieser sogleich 3 ccm Schwefelsäure und 1 ccm Indikator zugesetzt; hierauf wird das in der Lösung noch zurückgebliebene Ammoniak unter Zusatz von n/1000 NaOH im Überschuß in das gleiche Vorlagekölbchen überdestilliert, in welchem während des Versuchs das von dem O_2-Strom mitgerissene Ammoniak aufgenommen worden war. Nach Beendigung der 3 bis 5 Minuten dauernden Destillation wird die Gesamtmenge des NH_3 durch Zurücktitrieren der noch heißen H_2SO_4 mit n/1000 NaOH bestimmt. Eine Zersetzung etwa vorhandenen Harnstoffs ist bei der ganz schwachen Alkaleszenz der Lösung und der kurzen Dauer der Destillation nicht zu befürchten [vgl. auch *Hahn* und *Kootz*[1])].

Alle bei den Versuchen verwendeten Glasgeräte waren aus Jenaer Glas hergestellt und wurden ebenso wie die bei der Versuchsanordnung

[1]) *A. Hahn* und *E. Kootz*, diese Zeitschr. **105**, 220, 1920.

verwendeten Stopfen durch mehrfaches stundenlanges Auskochen und Stehenlassen mit Säure behandelt, um eine Abgabe von Alkali möglichst auszuschalten. Besonders sorgfältiger Prüfung auf Abgabe basischer Substanzen bedarf der zur Destillation verwendete Gummistopfen. Alle Lösungen waren mit *Kahlbaum*schem Leitfähigkeitswasser angesetzt. Als Indikator diente der von *Tashiro* empfohlene Methylenblau-Methylrotindikator, der sich gut bewährt hat. Seine Herstellung erfolgte in der von diesem Autor angegebenen Weise: 1 ccm 0,025proz. Methylenblau (*Merck*) wird zu 10 ccm 50proz. Alkohol zugesetzt, der mit Methylrot (*Kahlbaum*) gesättigt wurde. Der Farbenumschlag erfolgt beim Alkalisieren aus Violett in Grün.

Da es unmöglich ist, so schwache Lösungen bei konstantem Titer zu erhalten, wurden *alle Bestimmungen als Differenzbestimmungen* ausgeführt. Es wurde also nicht bloß unmittelbar vor jeder Titration die Natronlauge auf die Schwefelsäure frisch eingestellt und der NH_3-Gehalt jeder neuen Versuchslösung durch gleichartiges Überdestillieren bestimmt, sondern fast täglich ein Kontrollversuch durchgeführt, bei dem die gleiche Versuchsanordnung ohne Organ verwendet wurde. Der in dem Leerversuch ermittelte NH_3-Wert wurde von dem in dem Versuch selbst gefundenen in Abzug gebracht und auf diese Weise sowohl der durch den NH_3-Gehalt der Versuchslösungen wie der durch eine etwaige NH_3-Abgabe der Leitung und eine Alkaliabgabe des Glases an die Schwefelsäure entstehende Fehler ausgeschaltet.

Alle Versuche sind in der Zeit von Anfang Juli bis Anfang November an Rana esculenta bei Zimmertemperaturen von 18 bis 24° angestellt. Innerhalb dieser Grenzen war kein die individuellen Schwankungen übersteigender Einfluß der Temperatur feststellbar. Innerhalb eines Versuchs blieben deren Änderungen meist unter 1°.

B. Versuchsergebnisse.

I. Qualitative Vorversuche.

Es gelingt leicht, sich von dem Vorhandensein einer NH_3-Produktion[1]) durch den Nerven zu überzeugen. Hängt man einen ausgeschnittenen Froschischiadicus in einem Kölbchen auf, das mit einigen Kubikzentimetern *Nesslers* oder *Graves'* Reagens[2]) beschickt ist, so kann man nach einigen Stunden eine deutliche Gelbfärbung bzw. Trübung feststellen, die weit über die in dem organfreien Kontrollgefäß eintretende Veränderung hinausgeht. Angesichts des bedeutend größeren N-Umsatzes des Zentralnervensystems erwarteten wir eine entsprechend

[1]) Im folgenden ist ohne weiteres angenommen, daß es sich um Ammoniak handelt. Die Möglichkeit einer Abgabe anderer flüchtiger Basen, die mit den genannten Reagenzien Komplexsalze bilden, darf wohl außer Betracht bleiben.

[2]) Herstellung von *Graves'* Reagens nach den Angaben von *Tashiro*: Zu 80 g NaCl werden 130 ccm Wasser und 100 ccm kalt gesättigte $HgCl_2$-Lösung hinzugetan; nach völliger Lösung werden langsam unter Umschwenken 70 ccm gesättigter $LiCO_3$-Lösung zugesetzt. Bei Anwesenheit von Spuren von NH_3 entsteht ein weißer Niederschlag.

stärkere Reaktion bei Suspendieren des isolierten Froschrückenmarks an Stelle des Nerven. Überraschenderweise ergab sich das Gegenteil. Es war keine oder nur eine sehr schwache NH_3-Abgabe nachweisbar. Wohl aber trat eine solche beim Nerven wie beim Rückenmark ein, wenn die Gewebe nicht in Luft (oder Sauerstoff), sondern in physiologischer Kochsalzlösung belassen wurden, zu der nach Beendigung des Versuchs das NH_3-Reagens zugesetzt wurde. Die Erscheinung, daß nur der Nerv, nicht aber das Zentralnervensystem in einem gasförmigen Medium NH_3 abgibt, wurde, wie wir gleich sehen werden, auch mit der der quantitativen Bestimmung dienenden Versuchsanordnung festgestellt; sie steht, wie wir nachher fanden, in vollem Einklang mit unserer früheren Beobachtung (l. c.), daß der N-Gehalt des isolierten Rückenmarks in einer gasförmigen Atmosphäre keine Verminderung erfährt; auf die Erklärungsmöglichkeiten werden wir später zurückkommen.

II. Die NH_3-Abgabe des peripheren Nerven.

1. Gasförmiges Medium.

a) *Ruhe.* Zu jedem Versuch wurden zwei Ischiadici verwendet. $T = 21$ bis 24^0. Die Resultate sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt:

Tabelle I.

NH_3-Abgabe des ruhenden Nerven in Luft.

Nr.	Versuchsdauer Std.	NH_3-Abgabe in 10^{-7} g pro g u. Std.	Nr.	Versuchsdauer Std.	NH_3-Abgabe in 10^{-7} g pro g u. Std.
1	8	77,5	4	8	85,0
2	8	72,5	5	$6^1/_2$	50,8
3	8	97,5	6	$39^1/_2$	35,4

Als Mittel aus den vier Versuchen von je 8 Stunden Dauer ergibt sich für 1 g Nervensubstanz eine stündliche NH_3-Abgabe von $83,1 \times 10^{-7}$ g. Die gefundenen Werte sind etwa halb so groß wie die bei etwa der gleichen Temperatur von *Tashiro* an Rana pipiens gewonnenen. Dies beruht vermutlich zum großen Teile auf dem raschen Absinken der NH_3-Abgabe im Verlauf des Versuchs. Je kürzer die Versuchsperiode, um so größer daher innerhalb gewisser Grenzen der erhaltene Wert. In dem fast 40stündigen Versuch 6 war die gesamte NH_3-Abgabe nur etwa doppelt so groß als in den 8 Stunden der anderen.

b) *Reizung.* In den Versuchen der Tabelle II wurden die in Luft suspendierten Nerven durch kurze Reihen von Induktionsschlägen rhythmisch gereizt. $T = 18,2$ bis $21,5^0$.

Tabelle II.

NH_3-Abgabe des in Luft gereizten Nerven.

Nr.	Versuchsdauer Std.	NH_3-Abgabe in 10^{-7} g pro g u. Std.	Nr.	Versuchsdauer Std.	NH_3-Abgabe in 10^{-7} g pro g u. Std.
1	8	300	4	3	270
2	8	300	5	3	160
3	4	275			

In den beiden zuletzt angeführten Versuchen wurde die NH_3-Produktion noch in einer weiteren 3stündigen Versuchsperiode bestimmt; aber die Nerven erschienen vertrocknet und es ergab sich keine nachweisbare NH_3-Abgabe. Läßt man den letzten niedrigen Wert, bei dem vielleicht bereits eine Vertrocknung mitgespielt haben konnte, fort, so ergibt sich als Mittel für den gereizten Nerven 286×10^{-7} g, also ein mehr als dreimal so hoher Wert wie für den ruhenden Nerven. *Tashiro* fand bei seinen Versuchen die NH_3-Bildung bei Reizung auf mehr als das Doppelte gesteigert.

2. Flüssiges Medium.

a) *Ruhe.* In der Folge wurde die NH_3-Abgabe des Nerven stets in einem flüssigen Medium, und zwar in 0,7 Proz. NaCl-Lösung untersucht. In den beiden ersten Versuchen wurden je vier, in allen folgenden je zwei Ischiadici verwendet. Die Temperatur betrug in den beiden ersten Versuchen 23°, in den übrigen 18 bis 21,5°. Die Resultate der je achtstündigen Versuchsperioden sind in Tabelle III zusammengestellt.

Tabelle III.

NH_3-Abgabe des ruhenden Nerven in 0,7proz. NaCl-Lösung in achtstündigen Versuchsperioden.

Nr.	NH_3-Abgabe in 10^{-7} g pro g u. Std.	Nr.	NH_3-Abgabe in 10^{-7} g pro g u. Std.	Nr.	NH_3-Abgabe in 10^{-7} g pro g u. Std.
1	50	7	78,8	13	43,5
2	67,5	8	57,2	14	48,6
3	47,5	9	59,5	15	47,0
4	41,3	10	48,5	16	46,0
5	37,5	11	99,2	17	96,4
6	53,8	12	102,8		Mittel 60,3

Der hier gefundene Mittelwert von $60,3 \times 10^{-7}$ g ist beträchtlich kleiner als der in dem gasförmigen Medium beobachtete. Angesichts der großen individuellen Schwankungen, in deren Bereich auch die in dem gasförmigen Medium gewonnenen Werte durchaus hineinfallen, erscheint es jedoch sehr fraglich, ob hier wirklich ein Einfluß des Mediums vorliegt. In Versuch 7 wurde an den Nerven *derselben* zwei

Frösche (von jedem Frosch je ein Ischiadicus) die NH_3-Abgabe in NaCl-Lösung mit jener in Luft verglichen; es ergab sich im letzteren Falle ein Wert von 85 gegenüber 78,8, also nur ein geringfügiger Unterschied. Die sehr großen Schwankungen dürften vielleicht zum Teil auf den ungleichen Bindegewebsgehalt der Präparate zurückzuführen sein.

Zur genaueren Verfolgung des *zeitlichen Verlaufs der NH_3-Abgabe* wurden die Versuche 10 bis 17 in der Weise angestellt, daß die NH_3-Abgabe an denselben Nerven in zwei aufeinanderfolgenden Versuchsperioden von je 4 Stunden Dauer gemessen wurde. Die Resultate sind in Tabelle IV wiedergegeben.

Tabelle IV.
NH_3-Abgabe des Nerven in zwei aufeinanderfolgenden vierstündigen Versuchsperioden in 0,7proz. NaCl-Lösung.

Nr.	NH_3-Abgabe in 10^{-7} g pro g u. Std.		Nr.	NH_3-Abgabe in 10^{-7} g pro g u. Std.	
	1. Periode	2. Periode		1. Periode	2. Periode
10	65	32,5	14	77,8	2,0
11	153,8	44,8	15	62,5	3,1
12	137	68,5	16	50	42,0
13	65	2,2	17	144,3	59,5

Aus diesen Daten ist ersichtlich, daß die Größe der NH_3-Abgabe in 0,7 proz. NaCl schon nach 4 Stunden eine oft sogar sehr bedeutende Verminderung erfährt. Der aus den vierstündigen Versuchsperioden errechnete Mittelwert der NH_3-Abgabe ist infolgedessen mit $94{,}4 \times 10^{-7}$ g viel höher als der für 8 Stunden ermittelte.

Die früheren Untersuchungen von *Hirschberg* und *Winterstein* (a. a. O.) hatten ergeben, daß der Umsatz N-haltiger Substanzen im Nervensystem durch Zufuhr von Zucker eine unter Umständen sehr beträchtliche Einschränkung erfahren kann. Analoge Versuche über die Wirkung eines Zuckerzusatzes zur NaCl-Lösung auf die NH_3-Abgabe führten zu keinem sicheren Ergebnis. Zusatz von *Galaktose*, die auch im Gesamtumsatz an Stickstoff keine Ersparnis zu bewirken vermag, hatte meist sogar eine deutliche *Steigerung* der NH_3-Abgabe zur Folge.

b) *Reizung.* Um bei den großen individuellen Schwankungen möglichst genau vergleichbare Werte des Ruhe- und Reizstoffwechsels zu gewinnen, wurden die Versuche in der Weise angestellt, daß je zwei Nerven eines Froschpaares (und zwar von jedem Froschpaar immer ein Ischiadicus) in der oben angegebenen Weise gereizt und die beiden anderen unter sonst gleichen Bedingungen in Ruhe belassen wurden. $T = 18{,}5$ bis 20^0. Die Ergebnisse zeigt Tabelle V.

Tabelle V.
Vergleich der NH_3-Abgabe der Nerven in der Ruhe und bei Reizung.

Nr.	Versuchsdauer Std.	NH_3-Abgabe in 10^{-7} g pro g und Std. 1. Paar	2. Paar	Reizumsatz in Proz. des Ruheumsatzes
1	4	Ruhe 65	Reizung 140	215
2	4	„ 65	„ 125	192
3	4	„ 77,8	„ 148	190
	4	„ 2,0	Ruhe 0	
4	4	„ 62,5	Reizung 123,3	197
	4	„ 3,1	Ruhe 0	
	3	„ 53,6	Ruhe 64	
5	3	„ 33,3	Reizung 95,3	286

Die ersten vier Versuche weisen gegenüber den unter den gleichen Bedingungen gewonnenen Werten des Ruhestoffwechsels eine Steigerung auf fast genau das Doppelte auf. Das erhebliche Zurückbleiben hinter den in einem gasförmigen Medium beobachteten Werten des Reizstoffwechsels kann einfach auf die geringere Stärke der Reizung bei Eintauchen der Elektroden in Flüssigkeit zurückführbar sein. Bemerkenswert ist, daß in den Versuchen 3 und 4 in der zweiten Versuchsperiode nach der Reizung überhaupt keine NH_3-Abgabe mehr im Ruhestoffwechsel feststellbar war, offenbar infolge der starken Verminderung an NH_3-bildendem Material. Hingegen ist der nach einer gleich langen Ruheperiode in Versuch 5 zu beobachtende Wert des Reizstoffwechsels noch sehr beträchtlich und zeigt gegenüber dem unter den gleichen Bedingungen beobachteten Ruhewert des anderen Nervenpaares eine viel bedeutendere prozentige Steigerung als sie sonst in der ersten Versuchsperiode zu beobachten war.

c) *Narkose* Wie der Gesamt-N-Umsatz des Zentralnervensystems, so kann auch die NH_3-Abgabe des peripheren Nerven durch Narkose

Tabelle VI.
Einfluß der Narkose auf die NH_3-Abgabe der Nerven.

Nr.	Versuchsdauer Std	NH_3-Abgabe in 10^{-7} g pro g u. Std. 1. Paar	2. Paar (ohne Narkose)
1	4	Narkose 0	
	4	ohne Narkose 191	
2	3	Narkose 45,7	
	3	ohne Narkose 65,3	
3	3	Narkose 0	140
	3	ohne Narkose 128	70
4	3	Narkose 0	156,3
	3	ohne Narkose 232	91,7

bis unter die Grenzen der Meßbarkeit heruntergedrückt werden. Dies zeigen die in Tabelle VI zusammengestellten Versuche, in denen die NH_3-Abgabe derselben Nerven erst mit und dann ohne Zusatz von 1 Proz. Äthylurethan zu der 0,7 proz. NaCl-Lösung untersucht wurde. In Versuch 3 und 4 ist sie außerdem mit der NH_3-Abgabe zweier unter sonst gleichen Bedingungen ohne Narkose gehaltener Nerven des gleichen Froschpaares verglichen. $T = 19$ bis $21{,}5^0$.

Die Versuche zeigen auf das klarste, daß die Unterdrückung der NH_3-Abgabe durch die Narkose tatsächlich auf einem Unterbleiben des Umsatzes der NH_3-liefernden Substanzen beruht, die infolgedessen erhalten bleiben. Denn während sonst die NH_3-Abgabe in der zweiten drei- bis vierstündigen Versuchsperiode stets weit hinter jener der ersten zurückbleibt, ist sie hier sehr bedeutend, ja, wie die absoluten Werte und in Versuch 3 und 4 der Vergleich mit den unnarkotisierten Nerven ergibt, zum Teil sogar größer als der Anfangswert unter gewöhnlichen Bedingungen, vermutlich infolge einer Stoffwechselsteigerung durch die ganz schwachen Narkotikumkonzentrationen, wie sie wohl durch die Überführung der urethanhaltigen Nerven in die urethanfreie NaCl-Lösung hergestellt wurden.

III. Die NH_3-Abgabe des isolierten Froschrückenmarks.

Wie bereits bei Erörterung der qualitativen Vorversuche vermerkt wurde, zeigt das isolierte Rückenmark, das in Luft oder Sauerstoff-

Tabelle VII.

NH_3-Abgabe des Rückenmarks (mit Pia) in 0,7 proz. NaCl-Lösung.

Nr.	Versuchsdauer Std.	NH_3-Abgabe in 10^{-7} g pro g u. Std.	Nr.	Versuchsdauer Std.	NH_3-Abgabe in 10^{-7} g pro g u. Std.
1	9	100	13	4	50
2	8	107		4	71
3	8	56,3			
4	8	70,6	14	4	59,5
5	8	70,9		4	45,5
6	8	51,9			
7	8	98,0	15	4	79,8
8	8	98,9		4	68,3
		Mittel 81,7			
			16	4	106,8
9	4	83,2		4	45
10	4	112,3			
11	4	88,3	17	4	144
12	4	143,8		4	40
Mittel der ersten vierstündigen Versuchsperiode 96,4 (Vers. 9–17)					
			18	3	168,8
				3	76,7
			19	3	187
				3	24,5

atmosphäre aufgehangen wird, keine meßbare NH_3-Abgabe, und zwar weder in der Ruhe, noch bei elektrischer Reizung. Alle folgenden Versuche sind daher an Präparaten angestellt, die (bei ständiger O_2-Durchleitung) in physiologischer NaCl-Lösung suspendiert waren. (Bezüglich der Herstellung der Präparate muß auf die früher zitierten Arbeiten verwiesen werden.)

Die Tabelle VII gibt eine Zusammenstellung der Werte der NH_3-Abgabe des von der Gefäßhaut umhüllten Rückenmarks in Versuchsperioden von verschiedener Dauer. $T = 18{,}7$ bis $22{,}5^0$.

Wie die Tabelle zeigt, erscheint auch beim Rückenmark im Durchschnitt die NH_3-Abgabe der ersten Zeit um so größer, je kürzer die Versuchsperiode gewählt wird. Doch besitzt die NH_3-Abgabe auch in der zweiten drei- bis vierstündigen Versuchsperiode noch einen ansehnlichen Wert, der im Verhältnis zu jenem der ersten Versuchsperiode um so größer zu sein scheint, je kleiner die NH_3-Abgabe in dieser war.

In Tabelle VIII sind noch einige Versuche wiedergegeben, in denen das Rückenmark von der Gefäßhaut befreit worden war. Hierbei sind die beiden zuletzt angeführten Versuche 7 und 8 am Gesamtzentralnervensystem (Gehirn + piafreies Rückenmark) angestellt. Die Temperatur betrug in Versuch 1 22,8 bis $23{,}8^0$, in den übrigen 18,2 bis $20{,}5^0$. Der Fortfall der Gefäßhaut bewirkt anscheinend eine Erhöhung der durchschnittlichen NH_3-Abgabe.

Tabelle VIII.

NH_3-Abgabe des Zentralnervensystems ohne Gefäßhaut.

Nr.	Versuchsdauer Std.	NH_3-Abgabe in 10^{-7} g pro g u. Std.	Nr.	Versuchsdauer Std.	NH_3-Abgabe in 10^{-7} g pro g u. Std.
1	7	95,2	6	3	222,3
2	4	158,5	7	4	235,8
3	4	176,8		4	114
4	4	113,5	8	4	199,5
	4	56,8		4	136,8
5	3	148			

Versuche mit Zuckerzusatz führten auch beim Rückenmark zu keinem eindeutigen Ergebnis. Merkwürdigerweise gilt das gleiche auch für die Versuche mit elektrischer Reizung. Während diese, wie früher gezeigt wurde (a. a. O.), den Gesamt-N-Umsatz in gewaltiger Weise steigert und, wie wir im vorangehenden gesehen haben, auch die NH_3-Abgabe des peripheren Nerven auf das Zwei- bis Dreifache zu erhöhen vermag, fielen die Werte der NH_3-Abgabe im Reizstoffwechsel des isolierten Rückenmarks zur Gänze in das Bereich der auch im Ruhe-

stoffwechsel beobachteten individuellen Schwankungen. Wir kommen auf diese Erscheinungen noch zurück.

Wirkung der Narkose. Dagegen stimmen die in Tabelle IX zusammengestellten Versuche über den Einfluß des Zusatzes von 1 Proz. Urethan auf die NH_3-Abgabe des isolierten Rückenmarks mit den am Nerven gewonnenen Ergebnissen gut überein. So wie dort wird auch hier die NH_3-Abgabe stark, zum Teil unter die Grenze der Meßbarkeit heruntergedrückt, und die in der darauffolgenden Erholung beobachteten NH_3-Werte sind viel höher als dies sonst in einer zweiten drei- bis vierstündigen Versuchsperiode der Fall ist; und zwar sind auch hier die Werte um so größer, je geringer sie in der vorangegangenen Narkose waren, je weniger also von dem Vorrat NH_3-bildender Substanzen aufgezehrt war. $T = 19$ bis $21{,}5^0$.

Tabelle IX.

Einfluß der Narkose auf die NH_3-Abgabe des isolierten Rückenmarks.

Nr.	Versuchsdauer Std.	NH_3-Abgabe in 10^{-7} g pro g u. Std.	
1	3	Narkose	54,3
	3	ohne Narkose	124,7
2	3	Narkose	47
	3	ohne Narkose	131,7
3	3	Narkose	0
	3	ohne Narkose	210
4	4	Narkose	0
	4	ohne Narkose	192,7

IV. Erörterung der Versuchsergebnisse.

Wohl das auffälligste Ergebnis der im vorstehenden mitgeteilten Versuche ist die *qualitative* Verschiedenheit im Verhalten des peripheren und des zentralen Nervensystems. Während der Nerv, wie schon *Tashiro* festgestellt hat, relativ beträchtliche Ammoniakmengen an die umgebende Atmosphäre abgibt, ist dies beim Rückenmark nur spurweise und in einer quantitativ nicht meßbaren Menge der Fall. In einem flüssigen Medium gibt auch das Zentralnervensystem Ammoniak ab; seine Menge ist zwar, absolut genommen, von der gleichen Größenordnung wie beim peripheren Nerven, aber auf die Größe des Gesamtumsatzes N-haltiger Substanzen bezogen, bleibt sie hinter der letzteren wieder erheblich zurück. Berechnet man aus den von *Hirschberg* und *Winterstein* (a. a. O.) mitgeteilten Werten des N-Umsatzes und den im vorangehenden angeführten Mittelwerten der NH_3-Abgabe in den ersten 4 Stunden den Prozentanteil des Ammoniakstickstoffs an dem Gesamtstickstoffverlust, so ergibt sich für den Nerven ein Wert von

14,2 Proz., für das Rückenmark dagegen nur ein solcher von 7,7 Proz., also nicht viel mehr als die Hälfte; noch größer wird die Differenz im Reizstoffwechsel, wo beim Rückenmark bei einer sehr gewaltigen Steigerung des Gesamtumsatzes an Stickstoff bisher keine die individuellen Schwankungen des Ruhestoffwechsels übersteigende NH_3-Abgabe beobachtet werden konnte.

Sucht man nach einer Erklärung dieser merkwürdigen Erscheinung, so wird man sie unseres Erachtens schwerlich in einer wirklich qualitativen Verschiedenheit der fundamentalen Stoffwechselvorgänge suchen dürfen, für die keine der bisher sonst über die chemischen Prozesse im Nervensystem angestellten Untersuchungen einen Anhaltspunkt ergeben hat. Wahrscheinlicher dürfte es sein, daß das primär im Zentralnervensystem in viel größerer Menge gebildete Ammoniak eine Weiterverarbeitung, vielleicht zu Harnstoff, erfährt, während die Fähigkeit zu einer solchen der peripheren Nervenfaser abgeht. So unterbleibt denn in einem gasförmigen Medium beim Rückenmark die NH_3-Abgabe so gut wie völlig, und in einem flüssigen Medium, in welchem das Herausdiffundieren des Ammoniaks in den oberflächlichen Schichten vielleicht mit größerer Geschwindigkeit vor sich gehen kann, ist eine Abgabe zwar feststellbar, bleibt aber auch hier im Verhältnis zu dem Gesamtverlust an Stickstoff hinter der am Nerven zu beobachtenden stark zurück. Sollte die Beobachtung, daß die NH_3-Abgabe der Nervenzentren bei Reizung keine Steigerung erfährt, sich tatsächlich bestätigen, was noch den Gegenstand weiterer Nachprüfung bilden soll, so würde wohl auch dies durch eine der Mehrbildung entsprechende Mehrumwandlung des Ammoniaks am einfachsten erklärbar sein. Vielleicht ist auch die Erleichterung der Ammoniakdiffusion bei Fehlen der durch ihre besonderen Permeabilitätsverhältnisse ausgezeichneten Gefäßhaut [vgl. *Unger*[1])] die Ursache für die anscheinend größere NH_3-Abgabe der piafreien Präparate. Eine genauere Aufklärung erhoffen wir von weiteren Versuchen über die Natur der den N-Verlust bedingenden Substanzen.

C. Zusammenfassung.

In Bestätigung der Versuche von *Tashiro* wurde festgestellt, daß der periphere Froschnerv an seine Umgebung Ammoniak abgibt, und zwar sowohl in einem gasförmigen wie in einem flüssigen Medium. Diese NH_3-Abgabe ist bei frischen Nerven erheblich größer als nach längerer Versuchsdauer, so daß die NH_3-Abgabe der zweiten 4 Stunden oft nur mehr einen kleinen Bruchteil jener der ersten 4 Stunden darstellt. Elektrische Reizung bedingt, wie gleichfalls *Tashiro* schon beobachtet

---

[1]) *R. Unger*, diese Zeitschr. 80, 364, 1917.

hatte, eine gewaltige Steigerung der NH_3-Abgabe, die in einem flüssigen Medium auf das Doppelte, in Luft sogar auf mehr als das Dreifache des Ruhewerts ansteigen kann.

In überraschendem Gegensatz hierzu zeigt das isolierte Froschrückenmark in einer gasförmigen Atmosphäre weder in der Ruhe noch bei Reizung eine meßbare NH_3-Abgabe. In einem flüssigen Medium ist diese, bezogen auf die Gewichtseinheit, ungefähr von der gleichen Größenordnung wie beim Nerven (etwa 1×10^{-5} g pro Gramm und Stunde), bezogen auf den Gesamt-N-Verlust, aber nur etwa halb so groß. Auch konnte hier bisher kein deutlicher Einfluß der Reizung festgestellt werden.

Durch Narkose mit 1 Proz. Urethan kann die NH_3-Abgabe sowohl beim peripheren wie beim zentralen Nervensystem völlig unterdrückt werden; nach Aufhebung der Narkose steigt dann die NH_3-Abgabe weit über den in der gleichen Versuchsperiode am unnarkotisierten Präparat zu beobachtenden Wert hinaus.

Zur vorläufigen Erklärung der Unterschiede in dem Verhalten des peripheren und zentralen Nervensystems wird eine teilweise Weiterverarbeitung des Ammoniaks zu anderen Ausscheidungsprodukten in den Nervenzentren angenommen; die Fähigkeit hierzu würde dem peripheren Nerven abgehen.

Kleine Beiträge zur Cystinurie.

Von

Adolf Magnus-Levy, Berlin.

(Eingegangen am 25. Januar 1825.)

I. Zu Gaskells Methode der Cystinfällung.

Bei *Gaskells* Methode der Cystinfällung läßt sich die zweite Ausfällung des Cystins und seine Wägung mit Vorteil ersetzen durch die polarimetrische Bestimmung, die dank der außerordentlich hohen Drehung dieses Körpers (224°) sehr zweckmäßige Werte gibt. 1 Prom., also 10 mg in 10 ccm, dreht im 2-dcm-Rohr noch 0,45°. Um die Zulässigkeit dieses Verfahrens zu erweisen, habe ich zunächst die optischen Konstanten unter verschiedenen Verhältnissen noch einmal geprüft.

Das aus Harn gewonnene Cystin war zahlreiche Male umkristallisiert worden; nach vierwöchigem Stehen über Schwefelsäure verlor es bei 105° nur 0,1 bis 0,15 Proz. an Gewicht. Die Lösung erfolgte in Normalsalzsäure, die Polarisation im 2-dcm-Rohr im Halbschattenapparat.

1. Die spezifische Drehung ist bei einer Konzentration von 1 bis 7 Proz. konstant.

Konzentration (g in 100 ccm)	Drehung	α_D	
0,569	— 2,50°	— 222,5°	
4,884	— 22,10	— 226,3	223,8°
6,834	— 30,39	— 222,5	

Mörner fand — 223 bis 224°, *E. Fischer* 221,9 bis 223,6°.

2. In starker Salzsäure ist die Drehung geringer; solche darf nicht benutzt werden. 5 ccm obiger Lösung von 4,884 Proz. werden mit HCl von 19 Proz. auf 15 ccm gebracht. Die Lösung enthielt also 13 Proz. HCl[1]). und drehte nun schwächer:

[1]) Bei stärkerem Cystingehalt fällt auf Zusatz von 25proz. HCl salzsaures Cystin in Spießen aus. Hier war es nicht der Fall. Das salzsaure Cystin scharf abgesaugt und über KOH getrocknet, hat fast genau den theoretischen HCl-Gehalt.

Konzentration (g in 100 ccm)	Drehung	α_D
1,628	— 6,93°	— 212,8°

Ferner:

	HCl Proz.	Konzentration Proz.	Drehung	α_D
a)	4,2	2,675	11,98°	224°
b)	12,5	8,03	33,25	207

Lösung a) war aus b) durch Verdünnen mit H_2O hergestellt.

3. Eine geringe Beimengung von NH_4Cl zur normal-salzsauren Lösung ändert die Drehung nicht. Die obige Lösung b) wird 1. mit H_2O, 2. mit H_2O unter Zusatz einer geringen Menge NH_3 auf das Dreifache verdünnt:

Lösung in n HCl . . . . = — 11,98
„ „ 3,65proz. HCl + 1proz. NH_4Cl. . . = — 12,02

4. Im Anfang zeigen die Lösungen eine geringe *Minderdrehung*. Nach spätestens 24 Stunden bleibt die Drehung konstant. Da anderweitig davon nichts berichtet wird, hielt ich die Minderdrehung zunächst für zweifelhaft. Doch habe ich sie regelmäßig beobachtet und alle Ablesungen durch empfindlichere Augen kontrollieren lassen.

	2,228 Proz.	4,884 Proz.	6,834 Proz.	Unbekannt
Nach 1/2 Stunde . .	9,40	—	—	—
„ 1 „ . .	9,48	—	—	32,4
„ 1 1/2 Stunden .	9,73?	—	—	—
„ 3 „ .	—	21,4	29,85	—
„ 24 „ .	9,69	22,1	30,38	33,25
„ 48 „ .	9,68	22,05	30,40	—
„ 72 „ .	9,77?	22,10	30,40	—

Die Minderdrehung ist sehr gering, und da man das aus dem Harn gefällte Cystin auf dem Filter mit *heißer* Salzsäure löst, so fällt sie praktisch nicht in Betracht.

Löslichkeit des Cystins in H_2O und Urin. Bei einer *Prüfung der Genauigkeit von Gaskells* Methode habe ich nur die Alkoholfällung benutzt (über die Acetonfällung siehe weiter unten!). Gewogene Mengen reinsten Cystins werden in einer bestimmten Menge HCl gelöst, die Konzentration durch die Drehung der Lösung kontrolliert. Von dieser Lösung wurden Mengen entsprechend 22 bis 90 mg Cystin zu je 200 ccm destillierten Wassers oder cystinfreien Harns zugesetzt, in der wässerigen Lösung die Fällung mit Alkohol und Essigsäure ohne weiteres, im Urin teils mit, teils nach Ausfällen der Phosphate durch $CaCl_2$ und NH_3 bewirkt. Nach dreitägigem Stehen im Eisschrank wird der Niederschlag auf kleinem Munktellfilter gesammelt, mit dem Filtrat *voll-*

ständig auf das Filter gebracht und erst dann mit 50 ccm eines schwach essigsauren 50proz. Alkohols ausgewaschen. Der Niederschlag wird mit heißer Normalsalzsäure abgetropft, auf (möglichst nicht mehr als) 10 ccm aufgefüllt, die Lösung polarisiert. (Über Klärung und Entfärbung siehe weiter unten.)

Cystin mg	In	Wiedergefunden mg	Gelöst bleiben in 200 ccm mg		Gelöst bleiben in 1000 ccm mg	Bemerkungen
			A			
89	200 ccm H_2O	83	6	5	25	
45		41	4			
30		25	5			
			B			
90	200 ccm konzentrierten Urins	74	16	16	80	
90		71	19			
45		30	15			
22,5		8	14,5			
89	200 ccm dünnen Urins	78	11	12	60	
45		35	10			
22,5		7	15			
			C			
89	200 ccm dünnen Harns	78	11	11	—	a) Ohne Fällung der Phosphate
89		81	8			b) Erst Fällung der Phosphate, im Filtrat Fällung mit Alkohol-Essigsäure
89		75	14			c) Erst Fällung der Phosphate und sofortige Fällung mit Alkohol; in diesem Filtrat Fällung mit Essigsäure
—	200 ccm natürlichen Cystinharns	31 (32,5)	?		—	a) Ohne Fällung der Phosphate
—		31				b) Nach Fällung der Phosphate
—		34				c) Nach Fällung der Phosphate
			D			
—	200 ccm Cystinharn, nicht eingeengt	32,7	—		—	
—	bei 50° auf 31 ccm gebracht	32,0	—		—	
—	bei 50° auf 20 ccm gebracht	24,0	—		—	

E

Cystin mg	In	Wiedergefunden bei Alkoholfällung mg	Wiedergefunden bei Acetonfällung mg
30	200 ccm H_2O	25	11
89	200 ccm Urin	78 81 75	0
—	135 ccm Cystinharn	23	Spuren
—	200 ccm Cystinharn	40	6 17
—	250 ccm eiweißhaltigem Cystinharn	31	Spuren

1. Die 50 ccm obiger *Waschflüssigkeit* lösen kein Cystin. Beim Eindampfen und entsprechenden Behandeln scheiden sich keine Kri-

stalle aus, und man erhält nach dem Einengen mit Blei und Natronlauge keine deutliche Schwärzung, während solche schon bei 1 mg Cystingehalt in 50 ccm deutlich ist.

2. In 200 ccm mit Cystin versetzten *Wassers* bleiben nach der Ausfällung 5 mg gelöst, unabhängig von der Menge des zugesetzten Cystins (A der Tabelle).

3. In 200 ccm konzentrierten Urins blieben, ohne vorherige Ausfällung der Phosphate, 16 mg, in weniger konzentriertem Harn 12 mg Cystin gelöst (B der Tabelle).

4. Nach vorheriger Ausfällung der Phosphate blieben 8 mg statt 11 gelöst, es wurden 81 statt 78 wiedergefunden. Ebenso wurden bei einem natürlichen Cystinharn nach vorheriger Ausfällung der Phosphate 1,5 mg Cystin mehr gefunden, als bei unterbliebener Ausfällung (C der Tabelle).

Es entziehen sich also im Liter Wasser 25 mg, in einem Liter Cystinharn 60 bis 80 mg Cystin der Fällung. Beträge unter dieser Menge können mit *Gaskells* Methode nicht nachgewiesen werden.

Gaskell hat bei Zusatz von 0,1 mg Cystin zu 200 ccm Urin 4,1 bis 7 mg nicht wiedergefunden, also anscheinend etwas bessere Resultate erhalten; doch ist mir nach eigenen Erfahrungen zweifelhaft, ob die Trocknung des Cystins unter 100° die *völlige* Entfernung des Wassers garantiert und ob das gefällte Cystin, auch abgesehen vom Aschengehalt, absolut rein ist. Es scheint auch bei der zweimaligen Fällung des Cystins etwas Eiweiß oder Schleimsubstanz am Cystin zu haften. Im übrigen ist die Menge des wiederzufindenden Cystins auch von der Konzentration und sonstigen Beschaffenheit der Urine abhängig.

Eine Einengung der Urine bei gewöhnlichem Druck und mäßiger Temperatur (50° C) verbessert die Ausbeute nicht (D der Tabelle). Auch aus den Filtraten der Cystinurine erhält man beim Einengen und Verarbeiten keine weiteren Fällungen.

Zur Darstellung größerer Mengen Cystin aus Harn genügt denaturierter Spiritus.

Die Acetonfällung, die *Gaskell* vorwiegend benutzt zu haben scheint, und die er ebenso gut fand, wie die Alkoholfällung, ergab mir merkwürdigerweise bei mindestens 12 Parallelversuchen nach Art der obigen schlechte und äußerst wechselnde Resultate (E der Tabelle). Um jede Ungleichheit auszuschließen, habe ich die Vorbehandlung (Entfernung der Phosphate und Ansäuerung) in einer gemeinsamen Probe von 500 ccm Urin vorgenommen und dann die halbierten Filtrate mit Alkohol und Aceton gefällt. Ich erhielt durchweg bei der Acetonfällung beträchtlich weniger Cystin, oft nur einen Bruchteil, gelegentlich überhaupt keinen Niederschlag. Den Grund für das Versagen habe ich nicht gefunden; die Reinheit des Acetons

war durch Siedepunkt kontrolliert. Jedenfalls empfehle ich ausschließlich die Alkoholfällung.

Vorhandene Sedimente haben die meisten Analytiker vor der Probenahme durch Schütteln zu verteilen gesucht. Mir scheint es zweifelhaft, daß dabei die schweren und zum Teil am Glas haftenden Kristalle gleichmäßig verteilt werden können. Ich habe statt dessen den Urin so klar und weit wie möglich vom Niederschlag abgegossen, das Sediment durch Zusatz von Salzsäure zu dem restlichen Urin gelöst und aliquote Teile dieser Lösung mit aliquoten des Urins vereinigt. (Der nicht zur Mischung verwendete Anteil des Urins dient zu anderen Analysen.) Eine Enteiweißung des Urins ist meistens unnötig und vielleicht auch nicht empfehlenswert wegen der Möglichkeit (?), daß beim Aufkochen in schwach essigsaurer Reaktion Cystin verloren gehen könnte. Kleine Mengen Eiweiß und namentlich Mucin können sich zwar dem Cystinniederschlag beimengen, sind aber bei der polarimetrischen Bestimmung bedeutungslos, nicht so bei der Wägung.

Die Cystinbestimmung gestaltet sich demnach so:

1. Auflösen eines etwaigen Cystinsediments, nach Abgießen des Urins, in Salzsäure und Wiedervereinigung mit dem Harn nach obiger Vorschrift.

2. Ausfällen des Urins mit Ammoniak und nicht zu großen Mengen Chlorcalcium. Filtrieren nach einigen Stunden. Die Ammoniak- und Chlorcalciummengen einigermaßen ausprobieren. Ich brauchte für 300 ccm konzentrierten Urins etwa 12 ccm 10proz. Chlorcalciumlösung und 18 ccm 10proz. Ammoniak.

3. Einen aliquoter Teil des Filtrats, entsprechend 200 ccm Urin, mit Essigsäure schwach ansäuern und mit gleichen Mengen Alkohol versetzen.

4. Nach dreitägigem Stehen im Eisschrank durch ein kleines Munktellpapierfilter filtrieren, das Sediment durch Gummiwischer mit dem Filtrat *vollständig* auf das Filter bringen, dann auswaschen durch Abtropfen mit höchstens 50 ccm 50proz., leicht mit Essigsäure angesäuerten Alkohols.

5. Lösen des Niederschlags durch „Abtropfen" des Filters mit heißer Normalsalzsäure, das Filtrat mit der gleichen Säure bei kleineren Cystinmengen auf 10, höchstens 15 ccm bringen und polarisieren. 1^0 Linksdrehung im 2-dcm-Rohr = 0,223 Proz.

6. Ist die letzte Lösung, was in eiweißhaltigem und in konzentriertem Urin vorkommt, getrübt oder zu dunkel, so filtriert man die aufgefüllten 15 ccm durch ein kleineres Filterchen mit Kieselgur, oder man gibt einen Tropfen verdünnter Fe_2Cl_6-Lösung hinzu, übersättigt mit Ammoniak und filtriert quantitativ. Der Eisenniederschlag hält kein quantitatives Cystin zurück. Das nunmehr klare

Filtrat läßt man freiwillig verdampfen, löst aus dem Rückstand den Salmiak durch wenige Tropfen Wasser, gießt ab und löst den Cystinrückstand in Salzsäure und polarisiert. Man kann auch aus dem obigen ammoniakalischen Filtrat das Cystin ein zweites Mal durch Essigsäure fällen usw.

Zersetzung des Cystins in konserviertem Urin. Bei Aufbewahrung von Cytinharn mit $CHCl_3$ und Toluol in der Kühle nimmt das Cystin schneller oder langsamer ab. Bestimmungen nach einiger Zeit sind also unrichtig. Dabei war weder bakterielle Zersetzung, noch im filtrierten Urin Ausfällung eingetreten. In manchen Proben habe ich nach Monaten überhaupt kein Cytin mehr nachweisen können, auch nicht nach Kochen des Urins mit starker HCl. Eine Bindung des Cytins war also nicht eingetreten. Auch habe ich nach meiner Erinnerung — die Untersuchungen stammen aus dem Jahre 1913, und *diese* Notizen finde ich nicht mehr — nach Oxydation des Harns (Cystein ? ?) Cystin nicht wiedergefunden; auch glaube ich, daß der bleischwärzende Schwefel verschwunden oder stark vermindert war (? ?). Was aus dem Cystin geworden ist, ist mir vollständig unklar geblieben. Anderwärts habe ich eine derartige Angabe nicht gefunden.

II. Cystinurie und Infekt.

F. L., 45 Jahre alt, Brauereiarbeiter, stammt aus großer, zu Fettleibigkeit neigender Familie. Beide Eltern leben, 75jährig. Der Vater leidet an Altersreißen. Sonst sind weder bei ihm noch bei den drei Brüdern wesentliche Krankheiten oder Urinveränderungen bekannt.

Bei enormem Bier- und Schnapsgenuß und reichlichem Essen ist *L.* schon seit Jahren sehr korpulent. Seit 20 Jahren hat er mindestens sechs schwere Anfälle von Gelenkrheumatismus durchgemacht. Jeder dauerte 1 bis 5 Monate und befiel fast alle größeren Gelenke und eine Reihe kleinerer, jedoch mit Ausschluß der großen Zehen. Auch in den Zwischenzeiten viel Reißen. In den letzten Jahren leichte Atemnot. Von einem Herzfehler weiß Patient nichts. Einen Bodensatz im Urin hat er nie bemerkt. Keine Lues. Zwei gesunde Kinder.

Vom 26. Juni 1913 an 3 Wochen Darmkatarrh mit Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens. Der Patient arbeitete weiter, bis in der Nacht vom 16. zum 17. Juli plötzlich heftige Schmerzen in Armen und Beinen eintraten. Aufnahme auf meiner Abteilung im Friedrichshain am nächsten Tage.

Status. 18. Juli 1913. Riesiger Mann von kolossalem Bau und reichlichem Fettpolster. Nacktgewicht (kurz vor der Aufnahme) 118,5 kg. Mäßige subikterische Verfärbung der Konjunktiven. Leichte Angina lacunaris. Beide Fußgelenke geschwollen, gerötet, schmerzhaft, das rechte Kniegelenk mit einem Erguß, auch das linke leicht befallen, große Zehen frei. Temperatur 39,1°. Puls 92. Lunge o. B. Das Herz perkutorisch, und stärker noch im Röntgenbild, nach rechts und links verbreitert; leises systolisches Geräusch an der Mitralklappe, die anderen Töne leise. Die Leber überragt den Rippenrand um fast Handbreite. Keine Milzvergrößerung.

Urin dunkel, viel Eiweiß, granulierte Cylinder, Cylindroide, viel Indican, Urobilin und Urobilinogen und ein großes Sediment von typischen Cystinkristallen.

Verlauf. Sehr langwieriger, äußerst schmerzhafter Gelenkrheumatismus, der außer den bereits befallenen Gelenken noch die rechte Hand, das Kreuz und mit besonderer Heftigkeit beide Schultergelenke ergreift. Stärkeres unregelmäßiges Fieber 26 Tage, bis zum 11. August, dann subfebrile Temperaturen noch weitere 14 Tage bis zum 25. August (s. die Höchsttemperaturen in der Tabelle). Am 21. Juli trockene Pericarditis, am 1. August Exsudat im Herzbeutel. Am 3. August neue leichte Angina.

Langsame, noch durch Schmerz- und Temperaturattacken gestörte Rekonvaleszenz.

Atophan und Liqueur de Laville in der späteren Zeit brachten eher Besserung als die Salicylpräparate.

Trotzdem das Krankheitsibld in einigen Punkten an Gicht erinnerte, muß mit Rücksicht auf die Anamnese, die gleichzeitige Angina, den alten Herzfehler, an der Diagnose eines gewöhnlichen Rheumatismus festgehalten werden[1]). Der Kranke verlor bei schlechtem Appetit in den ersten 6½ Wochen 13 kg, in 10 Wochen im ganzen 16½ kg (s. Tabelle). Er wurde am 3. Oktober mit leichten chronischen Gelenkbeschwerden, mit Fortbestehen des Herzfehlers und einer leichten Nephritis entlassen.

Das *Cystin* war bis zuletzt im Harne nachweisbar. Bis zum 10. August war ein meist reichliches Sediment (bis zu 0,75 g am Tage) vorhanden, später traten gelegentlich kleine Mengen Kristalle im konzentrierten Harne auf; hellere Urine enthielten kein Sediment. Einige stecknadelkopfgroße Steinchen wurden Ende September gefunden; sonst fehlten sie stets.

Den Inhalt der Untersuchung bildeten

1. die absolute Größe der Cystinausscheidung während des Infekts und später,
2. das Verhalten eingeführten Cystins, Tyrosins und von Asparaginsäure,
3. das Verhalten der Cystinausscheidung bei steigendem Stickstoffumsatz im fieberfreien Zustande.

Die folgende Tabelle enthält das Ergebnis der Analysen. Eine lückenlose Cystinbestimmung war mir nicht möglich.

Die beabsichtigte Nachholung der Analysen in den konservierten Urinen war wegen Zersetzung des Cystins untunlich, siehe Teil I (ich habe alle Cystin- und S-Bestimmungen selber ausgeführt). Der N-Gehalt der zugewogenen Kost war nach eigenen Analysen annähernd genau bekannt.

1. *Die absolute Höhe der Cystinausscheidung* übertrifft mit 1,60 bis 1,80 g während der ersten 2 Wochen alle bisher bekannten Fälle; in der Mehrzahl dieser Fälle blieb sie unter 0,5 bis 0,6 g. Das erklärt sich zum Teil aus der Höhe des N-Umsatzes, der bei dem kolossalen Mann an sich beträchtlich, durch den fieberhaften Infekt

[1]) *Ebstein*, *Wolff* und *Shaffer*, *Hofmeister* berichten über Gelenkrheumatismus, *Cantanis* über Gicht.

Datum 1913	Gewicht kg	Temperatur °C	Urin Liter	Kost N	Urin N	Cystin g	100 Cystin S / N	
				etwa				
19. VII.	118,5	38,4—39,1	1,32	5—10	31,2			1,0 Aspirin
20. VII.		36,6—37,6	1,30	5—10	31,4			2,0 „
21. VII.		36,6—37,5	1,60	5—10	28,0			2,0 „
22. VII.		36,8—37,5	2,20	5—10	29,8			2,0 „
23. VII.		36,4—38,2	2,80	5—10	30,7	>1,76*	> 1,52	—
24. VII.		36,0—37,0	1,9	5—10	26,3	1,81?**		4,0 Natr. salicyl.
25. VII.		36,6—38,1	1,8	5—10	24,8	} 1,88?**		*10,0 Tetrapeptid*
26. VII.		37,0—38,1	1,8	5—10	24,8			*10,0* „
27. VII.		37,0—38,1	1,85	5—10	22,8	1,60	1,88	4,0 Natr. salicyl.
28. VII.		36,8—38,4	1,6	5—10	20,0	1,69?		4,0 „ „
29. VII.		37,6—38,6	1,6	5—10	24,0			6,0 „ „
30. VII.		36,6—38,4	1,8	11,3	24,2	1,68	} 1,93	*12,0 Asparagins.*
31. VII.		37,4—39,1	1,6	14	20,7	1,68		6,0 Natr. salicyl.
1. VIII.		37,9—39,0	1,5	10	26,8	1,47	1,47	6,0 Diplosal
2. VIII.		37,2—39,4	1,4	10	24,7			6,0 „
3. VIII.	111,0	37,0—38,3	1,02	10	16,9	1,48	2,26	6,0 „
4. VIII.		37,8—38,3	1,2	14	25,6	1,41	1,46	6,0 „
5. VIII.		38,0—39,0	1,1	9	21,8	1,59	1,95	6,0 „
6. VIII.		37,4—39,1	1,25	12,5	23,5	>0,9		6,0 „
7.—12. VIII.		37,0—38,9	1,2-2,9	10—15	16,3-21,1			Liqueur de Laville
13. VIII.		36,6—37,3	2,85	17	15,7	0,82	1,39	0
14. VIII.	108,7	37,1—37,3	3,70	19	17,6	0,72	1,09	0
15. VIII.		36,8—37,5	2,8	18*	18,5	>0,48*	> 0,69	*6,3 Cystin (Durchf.)*
16. VIII.	106	36,7—37,5	1,85	21	17,7	0,65	0,97	0
17.—19. VIII.	104,5	normal	1,1-1,7	16—20	16,2-19			
20.—25. VIII.	105,7		1,1-1,9	19—22	16 -22			
14.—15. IX.	102	„	1490	7,6	7,3			
16.—17. IX.	103	„	1600	7,6	5,3	0,25	0,93	
18.—19. IX.	103	„	3275	35,0	16,2			
20.—21. IX.	102	„	2170	35,0	22,1	0,85	0,42	
22.—23. IX.	102	„	2350	35,0	25,5	0,52	0,54	

* Kleiner Verlust. — ** Werte etwas zu hoch.

	Datum	Temperatur °C	N Bilanz	N Kost	N Urin	Cystin g	100 Cystin S / N
A .	23. VII.	36,4—38,2	— 20 bis 25	5—10?	30,7	1,76	1,52
B .	27. VII. bis 5. VIII.	bis 39,1	— 12	etwa 11	23 (17—27)	1,41—1,63	1,78 (1,47—2,26)
C .	13. bis 16. VIII.	37,3	+ 1	„ 19	17	0,48—0,82	1,08 (0,69—1,39)
D .	14. bis 16. IX.	fieberfrei	— 1	6	7	0,25	0,93
E .	22. bis 23. IX.	„	+ 10	35	26	0,52	0,54

bis auf 20 bis 32 g N gesteigert, täglich N-Verluste von 20 bis 25 g in der ersten Woche zur Folge hatte.

Gemessen an dem Verhältnis des ausgeschiedenen Cystin-S (× 100) zum N, ist die Stoffwechselstörung in den ersten fieberhaften Perioden

viel höher als in den späteren. Das kann zwei Ursachen haben. 1. Das Fieber und der Infekt selber steigert die Stoffwechselstörung. Ich halte diesen Grund für den vornehmlichsten. So schädigt ja auch in den meisten Fällen ein Infekt die KH-Verwertung im Diabetes beträchtlich. 2. Daneben könnte der Unterschied zwischen Nahrungs- und Körpereiweiß eine Rolle spielen. Von den 25 bis 30 g N der ersten Perioden stammten gegen 20 g aus abgebautem Körpereiweiß, von den 26 g der letzten Periode, die ausschließlich aus der Nahrung entnommen wurden, kamen über die Hälfte auf Milcheiweiß. Es ist möglich, daß das „Körpereiweiß" andere Mengen Cystin in den Harn liefert als „Nahrungseiweiß", teils weil es andere Cystinmengen vorgebildet enthält, teils weil seine Zersetzung anders abläuft. Abschließendes darüber ist nicht bekannt. — Doch glaube ich, daß es vornehmlich der Infekt selber ist, der die besonders große Störung im Abbau des Cystins verschuldet hat.

2. *Abhängigkeit der Cystinausscheidung vom Eiweißgehalt der Nahrung.* In Widerlegung früherer unzulänglicher Versuche haben *Alsberg* und *Folin, Wolff* und *Shaffer*, zuletzt *Klemperer* und *Jacoby* gezeigt, daß mit zunehmendem Eiweißgehalt der Kost die Cystinmenge steigt. Man muß nun zur Vermeidung früherer Fehlschläge die Spanne zwischen eiweißarmer und eiweißreicher Kost genügend groß machen. *Wolff* und *Steffen* fanden

N im Urin	3,5	4,2	11,4	14,6
Cystin-Schwefel (indirekt *berechnet*) .	0,13	0,13	0,21	0,35

Klemperer und *Jacoby* sahen im Hunger 0,078 Cystin gegen 0,35 bis 0,72 bei N-reicher Kost. Man kann aus diesem letzten Befund nicht etwa schließen, daß der exogene Eiweißgehalt mehr Cystin liefert als der endogene. Meistens wird ja das Gegenteil angenommen.

Mein Patient erhielt, nachdem er wochenlang fieberfrei gewesen, 4 Tage eine N-arme, gleich darauf eine äußerst N-reiche Kost, in

I. . . .	7,6 N	48 E	183 Kh	243 F	60 Alkohol	3300 Cal
II. . . .	35,0 N	220 E	187 Kh	85 F	53 ,,	2860 ,,

Hauptstickstoffträger waren in 1. 100 ccm Sahne und 80 g Brot, in 2. 2600 ccm Magermilch, 50 g Käse, 4 bis 5 Eier und 300 g Fleisch. Der Kranke setzte sich in 1. schnell ins Stickstoffgleichgewicht, in 2. stieg die Ausscheidung im Harn bis auf 27 g N, ohne das Gleichgewicht zu erreichen. Der Urin von je 2 Tagen wurde zusammen analysiert, die Zahlen der Tabelle sind Tagesmengen.

Bei dem für den riesigen Mann niedrigen Umsatz von 5,3 N fiel die Cystinmenge auf den niedrigsten überhaupt beobachteten Wert, 0,25. Bei dem vierfachen Umsatz von 22 bis 25 g N stieg das Cystin nur auf das Doppelte, 0,35 und 0,52, also ebenso wie bei den amerikanischen Autoren nicht parallel dem Eiweißumsatz. Man vergleiche

Zweitägige Perioden.

	Urin	N	N (NH_3)	Ūr	Schwefel				Cystin
					Gesamt	anorgan.	Neutral	in Cystin	
14. u. 15. IX.	1490	7,3	—	—	—	—	—	—	—
16. u. 17. IX.	1600	5,3	0,50	0,55	0,441	0,259	0,192	0,067	0,25
18. u. 19. IX.	3275	16,2	—	—	—	—	—	—	—
20. u. 21. IX.	2170	22,1	0,49	0,92	—	—	—	—	0,35
22. u. 23. IX.	2350	25,5	—	—	1,65	1,203	0,447	0,139	0,52

diese Periode mit den Tagen vom 13. und 14. September, die bei Fieberfreiheit noch unter der Nachwirkung des Infektes standen. Die N-Ausscheidung, auch hier ausschließlich aus dem Eiweiß der Nahrung stammend, war mit 17 bis 19 g N etwas geringer, die Cystinausscheidung mit 0,72 bis 0,82 wesentlich höher. Ich sehe darin einen Beweis für eine Schädigung des Cystinabbaus durch den Infekt. Auffallend war die enorme Schweißbildung an den Tagen der übermäßigen Eiweißzufuhr, sie war offenbar durch sie hervorgerufen.

III. Ausscheidung eingeführter Aminosäuren.

Loewy und *Neuberg* gaben ihren Patienten größere Mengen reiner Aminosäuren und fanden davon große Beträge im Urin wieder, von 6,0 g Tyrosin 4,82 g; von 5,0 Asparaginsäure 3,37; von 6,0 „Protein-Cystin", 5,8; dagegen von 3,5 „Steincystin" nichts; nach Lysinchlorhydrat und Arginincarbonat traten die zugehörigen Basen Cadaverin und Putrescin im Harne auf. Eine so starke Störung des Abbaus ist nie wieder beobachtet. Nur bei dem Kranken von *Williams* und *Wolff* gingen von 5,0 Cystin 1,33 in den Urin (indirekte Bestimmung) und der von *Wolff* und *Shaffer* schied aus von 10,0 Asparaginsäure 2,4 g; von 20,0 Glykokoll 4,0; dagegen nach 1,0 Tyrosin und 2 bis 10,0 Cystin *per os* nichts, wohl aber nach *subkutanen* Gaben von 1,0 Cystin 0,18 bis 0,8; nach 4,0 Cystin 1,2 und nach 0,8 bis 3,0 Cystein „etwas" (NB. überall indirekte Bestimmung). Bei allen anderen Kranken wurden geschluckte Aminosäuren der genannten Art vollständig verbrannt (*Ch. Simon, Alsberg-Folin, Garrod-Hurtley, Thiele, Hele, G. Rosenfeld*; letzterer gab auch Tryptophan).

Ebenso verhielt sich mein Kranker: 2 × 10,0 des leichtlöslichen „Tetrapeptids" aus Seide, enthaltend je 5,0 Tyrosin, 1 × 12,0 Asparaginsäure, wurden restlos verbrannt; von 6,3 Cystin (mit 1,68 S) gingen nur 40 Proz. = 0,7 bis 0,8 S in den Harn, ohne Steigerung des Cystins selber (siehe die Tabelle). Das Cystin hatte, wie auch bei einzelnen Kranken anderer Autoren, Durchfälle bewirkt, in denen ich den meisten Schwefel wiederfand; auch sonst sind, abgesehen von dem Patienten von *Loewy* und *Neuberg*, nie mehr als 30 bis 75 Proz. des Cystinschwefels resorbiert worden.

Auf *Diamine* habe ich nur gelegentlich gefahndet. Ich fand im Urin keine, in der Tagesmenge Stuhl 0,42 g reinen Cadaverindibenzoats.

	Urin Liter	N	a Gesamt S	b (SO_3) S	c Neutral-S	d Neutral-S abzüglich Cystin-S	e Cystin-S	Cystin	
22. VII.	2,2	29,8	2,199	—	—	—	—	—	
23. VII.	2,8	30,7	—	—	—	—	>0,469	**>1,76**	
25. u. 26. VII.	1,8	24,8	1,466	0,937	0,53	—	—	—	
30. u. 31. VII.	1,7	22,5	1,408	0,802	0,606	0,171	0,435	**1,68**	
13. VIII.	2,85	15,7	0,991	0,60	0,391	0,173	0,218	**0,82**	
14. VIII.	3,70	17,6				0,199	0,192	**0,72**	
15. VIII.	2,80	18,5	1,57	1,098	0,472	<0,344	>0,128	**>0,48**	6,3 Cystin
16. VIII.	1,85	17,7	1,18	0,833	0,347	0,274	0,173	**0,65**	= 1,68 S.
14. u. 15. IX.	1,49	7,3	0,441	0,259	0,192	0,125	0,067	**0,25**	
22. u. 23. IX.	2,35	25,5	1,65	1,203	0,447	0,308	0,139	**0,52**	

Die Beeinflussung der Zuckerbildung der Froschleber durch homologe Alkohole. II.

Von

E. J. Lesser.

(Aus dem Laboratorium der städtischen Krankenanstalten in Mannheim.)

(*Eingegangen am 26. Januar 1925.*)

Mit 4 Abbildungen im Text.

I.

Ich habe vor kurzem in Gemeinschaft mit *K. Zipf*[1]) gezeigt, daß isokapillare Lösungen homologer Alkohole in Konzentrationen, welche nach *Warburg* die Sauerstoffatmung um 50 Proz. reversibel herabsetzen, die Zuckerabgabe der herausgeschnittenen Froschleber im Verhältnis von 1 : 3 steigern. Die Reversibilität dieser Beeinflussung wurde nicht geprüft. Die Erhöhung der Zuckerbildung wurde bei einer Einwirkungszeit der Alkohollösung von 60 Minuten erhalten. *Linksz*[2]), ein Schüler *Höbers*, hat nun kürzlich aus dem physiologischen Institut in Kiel Versuche mitgeteilt, auf Grund deren er behauptet:

1. Daß ein kürzeres Einwirkenlassen der Alkohollösungen (20, 25, 30 Minuten) keine Erhöhung der Zuckerbildung, sondern eine reversible Hemmung der Zuckerabgabe bewirke.

2. Daß länger als 30 Minuten dauernde Einwirkung der Alkohollösungen eine irreparable Schädigung der Leber verursache, die sich in einer nicht reversiblen Steigerung der Zuckerbildung manifestiere.

Wären die Angaben von *Linksz* zutreffend, so würden die Versuche von *Lesser* und *Zipf* nicht mehr dafür beweisend sein, daß die räumliche Trennung von Glykogen und Diastase in der Leberzelle des Frosches darauf beruht, daß ein großer Teil der Diastase an Grenzflächen der Zellstruktur absorbiert und darum ohne Wirkung auf das Glykogen ist. Wenn auch schon ein flüchtiger Blick auf die Arbeit von *Linksz* zeigt, daß diese mit vollkommener Unkenntnis der für solche Versuche nötigen Methodik ausgeführt ist (siehe hierüber unter V), so hielt ich es doch für notwendig, die Angaben von *Linksz* nachzuprüfen[3]).

---

[1]) *Lesser* und *Zipf*, diese Zeitschr. **140**, 439, 1923.

[2]) *Artur Linksz*, Pflügers Arch. **204**, 572, 1924.

[3]) Für seine Hilfe bei der Ausführung eines Teiles dieser Versuche bin ich Herrn Assistenzarzt Dr. *Roth* zu Dank verpflichtet.

II.

Die Methodik bei diesen Versuchen war genau dieselbe wie in den Versuchen von *Lesser* und *Zipf*. Früher wurde die jeweils in 1 Stunde durch die Leber geflossene Lösung aufgefangen und analysiert. Diesmal wurde sie alle halbe Stunde abgegrenzt. Sonst aber blieb alles unverändert. (Zuckerbestimmung: Mikromethode von *Michaelis*. Vorbehandlung für die Zuckeranalyse wie bei *Lesser* und *Zipf* S. 440 angegeben. Durchströmungsgeschwindigkeit 20 bis 30 ccm in 30 Minuten. Temperatur 17 bis 19°, Durchströmungsflüssigkeit sauerstoffgesättigte, kohlensäurefreie 0,7 proz. Kochsalzlösung). Zunächst wurde festgestellt, wie sich unter diesen Bedingungen die Zuckerabgabe in den ersten $1\frac{1}{2}$ Stunden nach Tötung des Tieres gestaltet. Diese Versuche (6 ♀ 2 ♂) sind in Tabelle I zusammengestellt (Abb. 1).

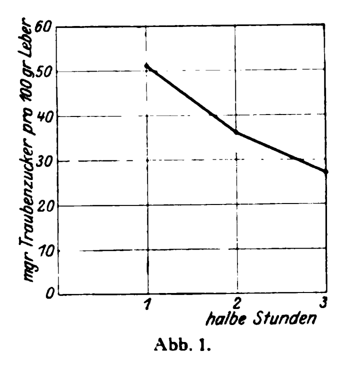


Abb. 1.

Tabelle I.

Datum	Traubenzucker pro 100 g Leber Periode 1 mg	Periode 2 mg	Periode 3 mg	
2. X. 24	28	17	11	♀ escul.
4. X.	18	18	17	
17. X.	70	37	30	
28. X.	61	58	47	
14. XI.	72	52	30	
20. XI.	52	32	29	
Mittelwert	51	36	27	Abnahme in Proz. von Periode 1 auf 2: 29,5; 2 auf 3: 25
5. XII.	255	140	97	♂ escul.
15. I. 25	142	91	65	
Mittelwert	149	116	81	Abnahme in Proz. von Periode 1 auf 2: 22; 2 auf 3: 30

Man sieht, daß in den ersten 90 Minuten nach Tötung des Tieres die Zuckerabgabe dauernd sinkt, und zwar fast geradlinig. Die Abnahme beträgt pro Periode im Mittel 26 bis 27 Proz. Mit einer einzigen Ausnahme ist die Zuckerabgabe in der zweiten Periode auch im Einzelversuch kleiner als in der ersten, und in der dritten Periode kleiner als in der zweiten. Mit diesen Versuchen war die Grundlage für die Versuche mit kurzdauernder Beeinflussung durch isokapillare Alkohollösungen gewonnen.

III.

Diese Versuche wurden so angestellt, daß zu Beginn der dritten Periode, also 60 Minuten nach Tötung des Tieres, für 10, 15, oder 20 Minuten eine 0,7 proz. Kochsalzlösung, welche in 100 ccm 9,2 ccm Äthyl- oder 4,9 ccm Propyl- oder 1,4 ccm Butylalkohol enthielt, durch die Leber geleitet wurde. In den restierenden 20, 15 oder 10 Minuten der Periode 3 wurde dann wieder reine Kochsalzlösung durch die Leber geschickt, und zwar bis zum Ende des Versuchs (meist 8, mitunter 7 halbe Stunden nach Tötung des Tieres). Das Ergebnis war in allen Versuchen (im ganzen 15 Versuche), daß, unabhängig von der Dauer der Durchströmung mit der alkoholhaltigen Lösung, immer in der Periode 3 eine starke Steigerung der Zuckerbildung auftrat, die nach kürzerer oder längerer Zeit wieder zur Norm absank. Nur in den Versuchen mit Butylalkohol war dieses Absinken nicht immer sehr deutlich ausgesprochen. Einige charak-

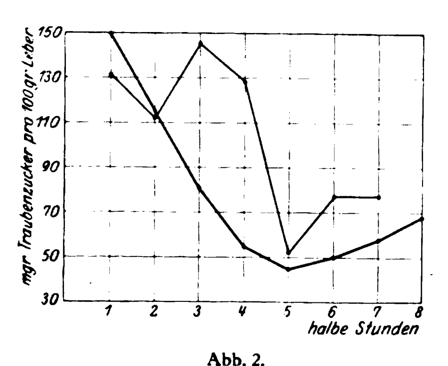


Abb. 2.
——— Normalversuch.
– – – In Periode 3 läuft während 15 Min. Äthylalkohol durch die Leber.

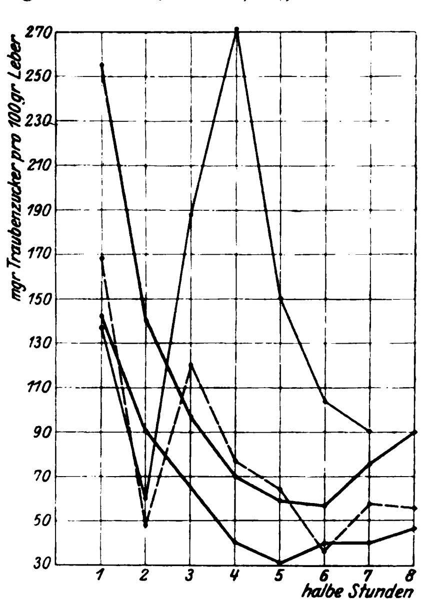


Abb. 3.
——— Normalversuche.
——— In Periode 3 läuft während 20 Min. Propylalkohol durch die Leber.
- - - - - In Periode 3 läuft während 10 Min. Propylalkohol durch die Leber.

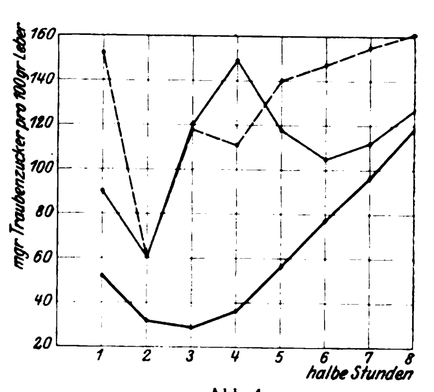


Abb. 4.
——— Normalversuche.
——— In Periode 3 läuft während 20 Min. Butylalkohol durch die Leber.
- - - - - In Periode 3 läuft während 10 Min. Butylalkohol durch die Leber.

teristische Versuche habe ich in der Tabelle II zusammengestellt. Ferner in den Kurven 2, 3 und 4.

Tabelle II.

Datum 1925—1924	Zuckerabgabe pro 100 g Leber in Periode 1 mg	2 mg	3 mg	4 mg	5 mg	6 mg	7 mg	8 mg	Bemerkungen
20. I.	131	112	145	128	52	77	77	—	♂ in Periode 3 Äthylalkohol 15′
16. I.	137	60	188	271	150	104	90	—	♂ in Periode 3 Propylalkohol 20′
19. I.	168	48	120	77	64	36	58	56	♂ in Periode 3 Propylalkohol 10′
26. XI.	90	61	120	149	118	105	112	127	♀ in Periode 3 Butylalkohol 20′
3. XII.	152	61	118	111	140	147	155	161	♂ in Periode 3 Butylalkohol 10′
1. XII.	52	46	92	119	106	119	127	146	♀ in Periode 3 Butylalkohol 20′

Gleichzeitig mit den Alkoholversuchen wurden immer auch Normalversuche angestellt, die nur in den Kurven wiedergegeben sind, da sie völlig mit meinen früheren Angaben übereinstimmen, nach denen ein Maximum der Zuckerabgabe in der 1. Stunde liegt, ein Minimum in der 2. oder 3. Stunde. Je nach Lage dieses Minimums steigt die Zuckerabgabe von der 3. oder 4. Stunde an wieder zu einem zweiten Maximum, welches das Maximum der 1. Stunde übertreffen kann. Bei den jetzigen Normalversuchen lag das Minimum bei den Versuchen mit ♀ in Periode 3 und 4, bei den Versuchen mit ♂ in Periode 5 und 6.

Wie aus der Tabelle II und den Kurven 2 bis 4 hervorgeht, erhält man durch kurzdauernde Durchströmung mit isokapillaren homologen Alkohollösungen in der von *Warburg* angegebenen Konzentration eine reversible Steigerung der Zuckerabgabe der künstlich durchströmten Froschleber. Man kann die Größe dieser Steigerung entweder auf die Größe der Zuckerabgabe in Periode 2 beziehen, oder auf die Zuckerabgabe, welche für die dritte Periode (auf Grund der in den Normalversuchen gefundenen Abnahme der Zuckerabgabe mit der Zeit) für die Größe zu berechnen ist, welche gefnnden wäre, wenn keine Beeinflussung durch Alkohol stattgefunden hätte (siehe Tabelle III).

Tabelle III.

	Dauer der Einwirkung	Steigerung der Zuckerbildung im Verhältnis 1 : x gegen Periode 2	gegen den ber. Wert der Periode 3
Äthylalkohol . . .	15′	1 : 1,2	1 : 1,7
Propylalkohol . .	20	1 : 3,1	1 : 4,3
„ . .	10	1 : 2,5	1 : 3,4
Butylalkohol . . .	20	1 : 2	1 : 2,7
„ . . .	20	1 : 2	1 : 2,7
„ . . .	10	1 : 1,9	1 : 2,6

In beiden Fällen ergibt sich für Butyl- und Propylalkohol eine Steigerung von etwa gleicher Größenordnung. Auch in diesen kurzdauernden Versuchen mit Butyl- und Propylalkohol ist die Zuckerbildung relativ um etwa den gleichen Betrag erhöht, wie in den früheren, länger dauernden Versuchen von *Lesser* und *Zipf* (a. a. O., S. 442). Nur der Äthylalkohol bleibt deutlich in seiner Wirkung zurück. Doch wurde mit Äthylalkohol bisher nur ein Versuch angestellt. Es hat aber den Anschein, daß die höheren Alkohole rascher in die Zelle eindringen als die niederen; während beim Butylalkohol zwischen dem 10 und 20 Minuten dauernden Versuch keine Differenz gefunden wird, findet sich eine solche beim Propylalkohol sehr ausgesprochen. Es ist möglich, daß bei 15 Minuten dauernder Durchströmung mit Äthylalkohol noch kein Gleichgewicht erreicht war, d. h. die Leber hatte die Alkoholmengen, die sie maximal aufnehmen kann, noch nicht erreicht.

In den Versuchen mit 20 Minuten dauernder Alkoholeinwirkung liegt das Maximum der Zuckerabgabe nicht in der Alkoholperiode selbst, sondern in der folgenden Periode. Aber auch in den nur 10 und 15 Minuten dauernden Alkoholversuchen ist die Zuckerabgabe in der Periode 4 noch erhöht. Man könnte hier an so etwas wie eine Nachwirkung denken, doch scheint mir eine andere Erklärung wahrscheinlicher zu sein. Der in der Leber (durch die vom Alkohol aus der Adsorption verdrängte Diastase) mehr gebildete Zucker kann nicht augenblicklich aus der Zelle austreten. Er braucht für diese Diffusion eine gewisse Zeit, die länger dauern wird, wenn die in der Leberzelle mehr gebildeten Traubenzuckermengen sehr groß werden. Ich habe genau das gleiche früher bei Beeinflussung der Froschleber durch Adrenalin gesehen, aber damals noch nicht genügend beachtet. Auch hier kam es vor, daß das Maximum der Zuckerabgabe in die auf die Adrenalinperiode folgende Periode fiel. Es ist daher, besonders bei kurzdauernden Versuchsperioden, nicht immer erlaubt, Zuckerabgabe und Zuckerbildung gleichzusetzen. Dies wird man höchstens dann tun dürfen, wenn es sich um Versuche mit möglichst gleichartigen Bedingungen handelt. Ich bin zu dieser Auffassung durch die schönen Versuche von *C. F. Cori*, *G. T. Cori* und *G. W. Pucher*[1]) gekommen, in denen gezeigt ist, daß nach Adrenalinabgabe der freie Leberzucker in 35 Minuten zum Maximum ansteigt, daß es aber 5 Stunden etwa dauert, bis er wieder zum Anfangswert herabsinkt.

IV.

Artur Linksz schreibt (a. a. O., S. 584): „In den Arbeiten von *Lesser* ist von dem Problem der Permeabilität der Leber nichts zu

[1]) *Cori*, *Cori* und *Pucher*, Journ. of Pharm. a. exper. Therap. 21, 377. 1923.

finden; er nimmt es scheinbar als selbstverständlich an, daß die Leber in beiden Richtungen Zucker durchläßt". *A. Linksz* hat mit dem ersten Satze völlig recht, nur hat er den Grund, warum in meinen Arbeiten über die Geschwindigkeit der Zuckerbildung in der Leberzelle des Frosches nichts von der Permeabilität der Leberzelle für Traubenzucker steht, nicht erkannt. Der Grund ist nämlich der folgende: Mit der Hydrolysengeschwindigkeit des Glykogens hat die Permeabilitätsfrage gar nichts zu tun. Das geht daraus hervor, daß man bei Beeinflussung der Zuckerbildung in der herausgeschnittenen Leber zu demselben Resultat kommt, ob man nun die Zuckerabgabe an die Durchströmungsflüssigkeit im *Fröhlich-Pollak*-Verfahren mißt (was aus technischen Gründen sehr viel genauer ist) oder die Glykogenabnahme in Leberlappen, welche in mit Sauerstoff durchströmter Ringerlösung suspendiert werden. Im letzteren Falle ist die Diffusion von Zucker aus der Leberzelle sehr viel kleiner als in Durchströmungsversuchen. Trotzdem erhält man, wie ich für die pankreasdiabetische und *Bang* für die Adrenalinleber gezeigt hat, nach beiden Methoden die gleichen Resultate. Um dies auch für die Alkoholbeeinflussung zu zeigen, wurde der folgende Versuch angestellt.

21. Januar 1925. Rana esculenta 11 Uhr 39 Minuten getötet, Leber wie gewöhnlich präpariert. Durchströmung beginnt 11 Uhr 57 Minuten, dauert bis 12 Uhr 10 Minuten, durchgeflossen 27 ccm einer 0,7proz. Kochsalzlösung, welche 0,83 mg Traubenzucker enthalten oder 0,03 mg pro Kubikzentimeter. Die Durchströmung wird um 12 Uhr 10 Minuten unterbrochen. Der rechte Seitenlappen wird abgebunden, nach Absaugung der außen anhaftenden Flüssigkeit mit Fließpapier abgetragen, und in ein gewogenes, mit Kautschukstopfen verschlossenes Zentrifugenglas gebracht. Zeit der Abtragung 12 Uhr 14 Minuten. Nunmehr Butylalkohol-Kochsalzlösung durch den Leberrest geleitet, bis die aus der Abflußkanüle austretende Flüssigkeit deutlich nach Butylalkohol riecht. Dazu ist die Durchleitung von 1,5 ccm Flüssigkeit nötig. Um 12 Uhr 19 Minuten wird der zweite Seitenlappen der Leber abgetragen unter genau demselben Verfahren, das bei dem ersten angewendet war. Beide Zentrifugengläser, in denen sich die Leberlappen in Luft ohne jeden Flüssigkeitszusatz befinden, kommen nach Wägung bis 1 Uhr 39 Minuten in ein Wasserbad bei 18,5°, dann werden beide im Zentrifugenglas unter Alkohol mit einem Glasstab zerdrückt, der Alkohol abzentrifugiert und der Rückstand so lange mit neuem Alkohol gewaschen, bis das Zentrifugat farblos ist. Der alkoholische Extrakt wird auf dem Wasserbad verdunstet, der Rückstand in Wasser suspendiert und, nach Ausfällung mit Quecksilberacetat und Entfernung des überschüssigen Quecksilbers, im letzten Filtrat der Zucker nach der Mikromethode von *Michaelis* bestimmt. In dem im Zentrifugenglas zurückgebliebenen, alkoholunlöslichen Rückstande der Leberlappen wird das Glykogen nach *Pflüger* bestimmt. Statt zu filtrieren, wird dabei stets zentrifugiert. Es ergibt sich alsdann:

	Glykogen	Zucker
1 g des nur mit 0,7proz. Kochsalzlösung durchspülten Lappens enthält	7,7 mg	1,8 mg
1 g des mit Butylalkohol-Kochsalzlösung durchspülten Lappens enthält	5,5 „	3,4 „

Das unter der Butylalkoholwirkung mehr verschwundene Glykogen beträgt demnach 2,2 mg, der mehr gebildete Zucker 1,6 mg. Berücksichtigt man, daß *Kerner* und *Lesser*[1]) festgestellt haben, daß die beiden Seitenlappen der durchspülten Froschleber Differenzen in Glykogengehalt von 0,5 bis 7 Proz. aufweisen können, so ist die gefundene Übereinstimmung zwischen Glykogenabnahme und Traubenzuckerbildung hinreichend. Die Differenz zwischen beiden beträgt pro Gramm Leber 0,6 mg oder 9 Proz. des Glykogengehalts in der Leber des Kochsalzlappens. Die Zuckermenge im butylalkoholhaltigen Leberlappen war auf nahezu das Doppelte gesteigert. In einem Versuch, in dem der gebildete Traubenzucker nicht aus der Leberzelle herausdiffundieren konnte, da ja die Leberlappen sich ohne jeden Zusatz von Flüssigkeit an der Luft befanden. Die bei der Durchspülung mit 1,5 ccm Butylalkohol-Kochsalzlösung herausgespülte Traubenzuckermenge ist zu geringfügig, um berücksichtigt zu werden. Sie kann etwa 0,05 mg (maximal) betragen haben (berechnet aus dem Zuckergehalt der 27 ccm Kochsalzlösung, die in der ersten Periode durch die Leber geschickt waren). Auch hier ergibt sich demnach für die durchströmte und für die undurchströmte Leber das gleiche Resultat. Die Permeabilität der Leberzelle für Traubenzucker kann demnach für die beobachtete Beeinflussung keine irgendwie ausschlaggebende Bedeutung haben.

Was aber die Meinung von *Linksz* betrifft, ich hielte es für selbstverständlich, daß die Membran der Leberzelle nach beiden Richtungen hin Zucker durchläßt, so befindet er sich im Irrtum. Ich halte dies keineswegs für selbstverständlich. Ich wäre vielmehr sehr glücklich, wenn ich wüßte, wie der Mechanismus dieses Vorgangs beschaffen ist. Ich habe aber noch niemals eine Leber — Warmblüter- oder Kaltblüterleber herausgeschnitten oder im lebenden Tiere gesehen, oder von einer solchen gelesen, die nicht nach beiden Seiten für Traubenzucker durchgängig gewesen ist, denn die Irrtümlichkeit der Auffassung von *Geiger* und *Loewi*[2]) habe ich theoretisch[3]) nachgewiesen, experimentell hat *Bernhard*[4]) das gleiche getan. Das Eindringen von Traubenzucker in die herausgeschnittene Leber beweisen die bekannten Versuche[5]) von *Grube*, *Barrenscheen*, *Parnas* und *Bär* über die Glykogenbildung in der herausgeschnittenen Warmblüter- und Kaltblüterleber, die Versuche von *Nishi* über Glykogensynthese

[1]) *Kerner* und *Lesser*, diese Zeitschr. **102**, 284, 1920.

[2]) *Geiger* und *Loewi*, Pflügers Arch. **198**, 633, 1923.

[3]) *E. J. Lesser*, Die innere Sekretion des Pankreas, S. 25. Jena, Gustav Fischer, 1924.

[4]) *Bernhard*, diese Zeitschr. **158**, 61, 1924.

[5]) Literaturnachweise s. *E. J. Lesser*, Die Wechselbeziehungen zwischen Glykogen und Traubenzucker und ihre Bedeutung für die Lehre vom Pankreasdiabetes. Ergebn. d. inn. Med. u. Kinderheilk. **16**, 279, 1919.

an der pankreasdiabetischen Schildkrötenleber, das nahezu augenblickliche Eindringen von Zucker in die Leber des lebenden Tieres nach Zuckerzufuhr per os beweisen die bereits zitierten Versuche von *Cori* und *Pucher*. Dieselben Autoren haben in Gemeinschaft mit *H. L. Goltz*[1]) gezeigt, daß das Lebervenenblut immer — auch unter Insulinwirkung — Zucker aus der Leber herausführt. Die Versuche von *Mann* und *Magath*[2]) am leberlosen Hund zeigen, daß sofort nach Leberausscheidung der Blutzucker sinkt, daß also intra vitam die Leber dauernd Zucker an das Blut abgibt, und zwar beim normalen Tiere ebenso wie beim pankreasdiabetischen. Ich kann daher nur wiederholen, daß stets, unter allen Versuchsbedingungen, die Membran der Leberzelle nach beiden Richtungen hin für Traubenzucker durchgängig gefunden wird, und werde in Zukunft wie in der Vergangenheit diese Permeabilität der Leber für Traubenzucker als eine experimentell sicher erwiesene Tatsache voraussetzen. Für die herausgeschnittene Froschleber haben die Versuche von *Bernhard* es sehr wahrscheinlich gemacht, daß es sich dabei um einen einfachen Diffusionsprozeß handelt. Selbst die Feststellung von *Linksz* a. a. O. S. 584, daß „*Höber* als erster auf die Möglichkeit hingewiesen hat, den Pankreasdiabetes durch eine Veränderung der Permeabilität der Leber für Zucker zu erklären", kann mich hierbei nicht beirren. Ich glaube, *Linksz* hätte seinem Lehrer *Höber* mehr gedient, wenn er dessen Erörterung dieser „Möglichkeit" („Die Membrantheorie des Diabetes", von der *Höber* in der Diskussion nach meinem Vortrag auf dem internationalen Physiologenkongreß in Groningen im Jahre 1913 zuerst sprach) in der Vergessenheit belassen hätte, in die sie mit Recht geraten war. Denn unsere Aufgabe ist es nicht, spekulativ „Möglichkeiten" zu ersinnen, sondern durch eindeutige Experimente das wirklich Vorhandene zu erklären.

V.

Es bleibt noch übrig darzulegen, wie die Differenz zwischen meinen Versuchen und den Versuchen von *Linksz* zu erklären ist. Zur Zuckerbestimmung benutzt *Linksz* die Methode von *Moeckel* und *Frank*, die aber bei Mengen von weniger als 1 mg Traubenzucker versagt, weil, falls man nicht zur Titration Mikrobüretten benutzt, die Ablesungsfehler fast ebenso groß werden als die bei der Titration gefundenen Werte und weil ferner die Eigenreduktion der Lösungen ebenso groß oder größer ist, als die gefundenen, geringen Kupfermengen. *Moeckel* und *Frank* gehen in ihrer Tabelle bis zu 0,5 mg Traubenzucker herunter. Nach meinen Erfahrungen sind aber die Werte unterhalb von

[1]) *Cori*, *Cori* und *Goltz*, Journ. of Pharm. a. exper. Therap. **22**, 355, 1923.

[2]) *Mann* und *Magath*, Arch. f. intern. Med. **31**, 797, 1923; Amer. Journ. of physiol. **55** ff.

1 mg Traubenzucker unsicher. *Linksz* glaubt allerdings, mit dieser Methode noch Mengen von 0,0, 0,1 und 0,2 mg Traubenzucker bestimmen zu können, was vollkommen ausgeschlossen ist. Warum *Linksz* keine der heute bekannten, guten Mikromethoden zur Traubenzuckerbestimmung verwendet hat, die damals, als *Fröhlich* und *Pollak* ihre ersten Versuche machten, noch unbekannt waren, ist mir unbegreiflich. Infolgedessen werden von den drei einzigen Versuchen mit Propylalkohol, welche *Linksz* mitteilt, zwei, welche eine reversible Hemmung der Zuckerbildung beweisen sollen, hinfällig (Versuch vom 14. März, 17. März 1924). Am 22. März 1924 hat *Linksz* nun einen Versuch angestellt, der in der ersten halben Stunde die „reversible Hemmung" in der zweiten die „irreversible Steigerung von *Lesser* und *Zipf*" ergeben soll. Hier zeigt sich, daß *Linksz* nicht einmal seine eigenen Versuchsergebnisse lesen kann. Er geht augenscheinlich von der Voraussetzung aus, daß die Zuckerbildung der unbeeinflußten Froschleber dauernd die gleiche bleibt. Auch bei 90 Minuten dauernden Versuchen. Diese Voraussetzung experimentell zu prüfen oder gar zu begründen, hält er für überflüssig. Daß sie vollkommen falsch ist, hätte er aus meiner Arbeit in dieser Zeitschrift (**102**, 294) entnehmen können. Die vorliegende Arbeit zeigt es aufs neue. *Linksz* findet nun in dem einzigen Versuch, den er mitteilt, folgende Verhältnisse:

		Traubenzucker
Zuckerabgabe	vor der Propylalkoholbeeinflussung in 10 Minuten	2,6 mg
„	in den ersten 30 Minuten nach Propylalkoholbeeinflussung	5,0 „
„	in den zweiten 30 Minuten nach Propylalkoholbeeinflussung	8,9 „

Es ergibt sich also, unter Annahme der *Linksz*schen Voraussetzung eines der Zeitachse parallelen Verlaufs der Zuckerkurve,

für 60 Minuten ohne Propylalkohol	15,6 mg	Zucker abgegeben
„ 60 „ mit „	13,9 „	„ „

d. h. *Linksz* findet bei 60 Minuten dauernder Durchspülung im ganzen eine kleine Abnahme der Zuckerbildung. Trotzdem behauptet er, „die irreversible Steigerung der Zuckerbildung von *Lesser* und *Zipf*" gefunden zu haben, welche fanden

Versuch vom 18. Dezember 1922:

in 60 Minuten ohne Propylalkohol	183 mg Traubenzucker	pro 100 g Leber
„ 60 „ mit „	521 „ „	„ 100 g „

Ein Kommentar hierzu ist wohl überflüssig. *Linksz* hält es nicht für nötig, die Gewichte der von ihm benutzten Lebern anzugeben. Rana temporaria hat viel kleinere Lebern als Eskulenta (*Bang*). Es gehört zu den Seltenheiten, daß man bei Eskulenten im März eine Leber findet, die mehr als 3 g wiegt. Eine Temporarienleber aber würde um diese Jahreszeit ein Gewicht von 2 g sicher nicht überschreiten.

Unter Zugrundelegung dieser Zahl ergibt sich für den Normalversuch von *Linksz* vom 22. März 1924 eine Zuckerbildung von 750 mg Traubenzucker pro 100 g Leber und Stunde. Das halte ich für einen ganz unmöglichen Wert, der nur durch Versuchs- oder Analysenfehler erklärbar ist, denn selbst die Werte, die wir für pankreasdiabetische Lebern finden, betragen nur 700 mg pro Stunde. Bei normalen Eskulenten finden wir selbst im Juni nur Werte von 320 mg Traubenzucker für die erste Stunde. *Linksz* stellt ferner in der zweiten Hälfte des Monats März Versuche an Temporarien an, obwohl ich bei Eskulenten gefunden habe, daß bei diesen, von Mitte April an, Adrenalin auf die Leber im Durchspülungsversuch nicht mehr zuckertreibend wirkt. Da die glykogenlabile Periode bei Temporaria — ebenso wie das Erwachen aus dem Winterschlaf, die Laichperiode — mindestens 1 bis 1½ Monate früher liegt, sind seine Alkoholversuche in einer bereits zu späten Jahreszeit angestellt. Endlich durchströmt er die Leber mit vollkommen unphysiologischen großen Flüssigkeitsmengen. Während ich vorgeschrieben habe (Begründung siehe meine Arbeit, diese Zeitschrift **102**, 294, sowie *Kerner* und *Lesser*, ebenda, **102**, 184), durch eine Eskulentaleber höchstens 50 ccm pro Stunde gehen zu lassen, schickt *Linksz* in der gleichen Zeit Mengen von 300 ccm durch die viel kleinere Temporarienleber. Ich habe nachgewiesen, daß die Durchströmung mit so großen Flüssigkeitsmengen Diastase aus der Leber herauswäscht und sie, bei längerer Durchströmung, adrenalinrefraktär macht. Das alles existiert für *Linksz* nicht. Er hat demnach seine Versuche mit in jeder Hinsicht fehlerhafter Methode angestellt. Die analytische Methode der Zuckerbestimmung war viel zu unempfindlich. Er hat nicht in einem einzigen Versuch nachgeprüft, wie sich die Zuckerabgabe gestaltet, wenn er seine Lebern unbeeinflußt läßt. Die Durchströmungsgeschwindigkeit war viel zu groß. Die Versuche wurden in einer zu späten Jahreszeit angestellt. Auf weitere Fehler und Irrtümer von *Linksz* einzugehen, will ich mir und den Lesern dieser Zeitschrift ersparen.

Zusammenfassung.

1. Durch 10 bis 20 Minuten dauernde Durchströmung der herausgeschnittenen Froschleber in den Wintermonaten mit 0,7 proz. Kochsalzlösungen, welche Äthyl-, Propyl- und Butylalkohol in der von *Warburg* angegebenen Konzentration enthalten, steigt die Zuckerabgabe an die Durchströmungsflüssigkeit auf das Zwei- bis Vierfache.
2. Diese Beeinflussung der Zuckerabgabe ist reversibel.
3. Sämtliche diesbezüglichen Angaben von *Artur Linksz*[1]) sind falsch.

[1]) *Artur Linksz*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **204**, 572, 1924.

Über den Kalkgehalt von Organen kalkbehandelter Katzen. V.

Von

Wolfgang Heubner.

(Aus dem pharmakologischen Institut zu Göttingen.)

(Eingegangen am 27. Januar 1925.)

Es war in dem Institut *Cremers*, daß mein Interesse an den Wirkungen des Calciums lebhafter wurde.

Als Kriegsgast freundlichst aufgenommen, hatte ich mich dort pflichtgemäß der Frage anzunehmen, welche Form der Calciumtherapie sich für die Behandlung des toxischen Lungenödems am besten eigne, nachdem *Laqueur* und *Magnus* die Aussichten einer solchen Therapie durch erfolgreiche Experimente gestützt hatten[1]). Dabei wurde ich auf die Vergiftungssymptome bei Zufuhr hoher Kalkdosen aufmerksam, deren Studium mich seither nicht wieder losließ, obwohl oder besser gerade weil dieses Vergiftungsbild geheimnisvolle Züge aufweist, die trotz mühsamer Arbeiten bis heute hartnäckig der Aufklärung widerstanden. Selbst die hingebende Teilnahme eines sonst so rasch und erfolgreich voranschreitenden Forschers wie *P. Rona* vermochte nicht, dieser Probleme in wünschenswertem Maße Herr zu werden. In Erinnerung an schöne gemeinsame Arbeit mit erfahrenen und geschätzten Kollegen unter den Augen des gütig fördernden Institutsvorstands *Cremer* sei diesem zu seinem 60. Geburtstag eine Darstellung neuerer Versuche gewidmet, die in unmittelbarer Fortsetzung der damaligen Arbeiten ausgeführt wurden.

I. Fragestellung und Methodisches.

Die pharmakologischen Wirkungen des Calciums zeigen sich in auffälliger Weise, wenigstens am Tiere, erst bei recht großen Dosen. Andererseits ist das Calcium leicht zu isolieren und quantitativ zu bestimmen. Aus diesen Tatsachen durfte man die Hoffnung ableiten, verhältnismäßig rasch einen Einblick in den Zusammenhang zwischen Verteilung oder Anhäufung des wirksamen Agens und der eintretenden Funktionsstörungen zu erhalten; dies muß ja immer eines der ersten Ziele der pharmakologischen Analyse bleiben. Die darauf gerichteten Bestrebungen enttäuschten dagegen sehr: Im Blute wurde keine Ver-

[1]) Vgl. Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **18**, 210, 1921.

mehrung des normalen Calciumbestandes mehr angetroffen, wenn die Vergiftungserscheinungen noch auf der Höhe waren[1]; in den Geweben wechselte zwar auch bei normalen, nicht mit Calcium behandelten Tieren der Calciumgehalt erheblich, doch konnte irgend ein greifbarer Unterschied nach Calciumvergiftung nicht festgestellt werden, weder beim einzelnen Individuum, noch bei statistischer Betrachtung der maximalen, minimalen und Mittelwerte in beiden Versuchsreihen[2]. Der Gedanke, daß Konzentrationsänderungen der Calcium*ionen* bei konstantem Gesamtcalcium für die Vergiftungssymptome verantwortlich seien, mußte fallen gelassen werden, als sich herausstellte, daß sekundäres Natriumphosphat die Giftigkeit des salzsauren oder essigsauren Calciums erheblich *steigerte*[3]. Man ist also zu Vermutungen gedrängt, die irgendwelche *sekundären* Veränderungen, die auf die Injektion von Calciumsalzen folgen, mit den gesetzten Funktionsstörungen in engeren Zusammenhang bringen. Ehe man vom Calcium *vollkommen* absieht und etwa *nur* nach Verschiebungen im Bereich der übrigen Mineralstoffe forscht, wird man alle Möglichkeiten zu erschöpfen suchen, die eine direktere Beziehung zwischen dem zugeführten Stoffe und den eintretenden Wirkungen annehmen lassen. Eine solche Möglichkeit sah ich in der Bildung von tertiärem Calciumphosphat mit einem gewissen, relativ hohen Dispersionsgrad und hielt sie vorläufig für einigermaßen gestützt durch Versuche, in denen ich mit *geringeren* Calciummengen in Form fein verteilten Phosphats dieselben Symptome erhielt, wie durch größere Calciummengen in Form löslicher Salze, und schließlich auch mit Eisenphosphat und Kieselsäure „Calciumsymptome" produzieren konnte[3]; auch bestärkten mich Untersuchungen am isolierten Froschherzen, die ich mit *Günther* ausführte, in der Überzeugung, daß das Calcium in Form unlöslicher Teilchen von kolloidaler Größenordnung beträchtliche biologische Wirkungen ausübe[4].

Trifft die genannte Annahme zu, so kann es nicht als endgültig hoffnungslos angesehen werden, doch noch eine *gewisse* Anhäufung von Calcium wenigstens an umschriebenen Stellen (z. B. Grenzflächen) aufzufinden, die zu einer einfacheren Beziehung zwischen zugeführtem Gift und Wirkung führt. Eine solche, für die *Masse* der Organsubstanz quantitativ kaum ins Gewicht fallende Anhäufung könnte sich unter

---

[1]) *Heubner* und *Rona*, diese Zeitschr. **93**, 187, bes. 202, 1919.

[2]) *Rona* und *Heubner*, ebendaselbst **93**, 353, 1919; **135**, 248, 1923; Verhandl. d. deutsch. pharmak. Ges. 1921, S. XXIV.

[3]) Vgl. Verhandl. d. deutsch. pharmak. Ges. 1922, S. XXXII; Klin. Wochenschrift 1923, S. 1603; Nachr. d. Ges. d. Wiss. zu Göttingen, Math.-Physik. Kl. 1924, S. 43.

[4]) Klin. Wochenschr. 1924, S. 789; Verhandl. d. deutsch. Ges. f. inn. Med. **36**, 52, 1924.

den bisher mitgeteilten Analysenzahlen wohl verborgen halten. Man wird versuchen müssen, histologische Methoden heranzuziehen; Untersuchungen in dieser Richtung habe ich gemeinsam mit dem erfahrenen Neurohistologen *Felix Stern* in Göttingen begonnen. Dennoch hielt ich es nicht für überflüssig, auch mit verfeinerter chemischer Analysentechnik nochmals an die Frage heranzugehen. Nachdem *G. Hecht*[1]) die von *de Waard* für Blutserum angegebene Mikromethode auf ihre Verwendbarkeit für Organe geprüft und bewährt gefunden hatte, war die Möglichkeit gegeben, *kleinere* Organteile als früher auf Calcium zu analysieren.

Die Symptome der Calciumvergiftung, die an anderer Stelle beschrieben wurden[2]) und später nochmals mit ausführlichen Belegen dargestellt werden sollen, deuten mit Entschiedenheit auf das *Gehirn* als Sitz der wesentlichsten Funktionsstörungen, und zwar *nicht* auf die Großhirnrinde, sondern auf diejenigen Teile, die der Erhaltung des Gleichgewichts, dem Haltetonus und den Stellreflexen dienen, also — grob gesprochen — Hirnstamm und Kleinhirn. Bereits in den Arbeiten von *Jungmann* und *Samter*[3]) sowie *Hecht*[4]) waren daher Analysen mitgeteilt worden, die die verschiedenen Hirnteile *getrennt* behandelten. Die damaligen Ergebnisse werden unten mit berücksichtigt werden.

Seither habe ich eine Reihe weiterer Katzen, zum Teil ohne, zum Teil nach Calciumzufuhr in der Weise präpariert, daß die einzelnen Hirnteile getrennt analysiert werden konnten: Die Schädel der Tiere habe ich immer eigenhändig geöffnet, um so viel als möglich eine Kontrolle darüber zu haben, daß keine Knochensplitter in die Gehirnmasse eingedrückt wurden; natürlich kommen für diese Möglichkeit nur Großhirn und Kleinhirn in Frage, niemals die verschiedenen Teile des Hirnstammes. Stets wurden die beiden Großhirnhälften sorgfältig in der Weise abgetrennt, daß der Thalamus opticus am Hirnstamm sitzen blieb, darauf die Brücken- und Bindearme des Kleinhirns durchschnitten, endlich der Hirnstamm durch einen Querschnitt in zwei Teile zerlegt; gewöhnlich lag der Schnitt oben unmittelbar hinter den Vierhügeln, unten am vorderen Rande der Brücke. Die Medulla wurde an der Grenze zwischen Oblongata und Halsmark quer durchtrennt. Die einzelnen Hirnteile wurden gewogen; die Summe ihrer Gewichte war — infolge Wasserverlust — stets etwas, doch nur wenig geringer als das Gewicht des unzerteilten Gehirns.

[1]) Diese Zeitschr. **143**. 342, 1923.

[2]) a. a. O.: Nachr. d. Ges. d. Wiss. zu Göttingen; Klin. Wochenschr. **1923**. S. 1603. Vgl. auch die sehr charakteristische Darstellung von *Versteegh*, **204**, 507, 1924.

[3]) Diese Zeitschr. **144**. 265. 1924.

[4]) Ebendaselbst **144**. 270. 1924.

Die Analysen wurden nach gründlicher Einübung unter meiner Kontrolle durch Fräulein *Hilde Bock* genau nach den von *Hecht*[1] gegebenen Anweisungen ausgeführt.

II. Befunde am Gehirn.

Für die Beurteilung der erhaltenen Analysenzahlen im Hinblick auf die Frage eines etwaigen Zusammenhangs zwischen Calciumanhäufung und -wirkungen ist es erforderlich, jedes einzelnen Tieres Vorgeschichte und Symptomenbild im Augenblick des Todes zu kennen. Daher läßt sich Wiedergabe der Einzelprotokolle nicht vermeiden.

A. Unvergiftete Tiere.

1. Katze gewöhnlicher Größe wurde am 30. Januar 1924 zu anderen Zwecken entblutet, einige Stunden danach das Gehirn seziert.

Hirnteil	Gewicht g	Von der Aschenlösung zur Analyse Proz.	Verbraucht n/100 Permanganat ccm	In der Asche gefunden mg Ca	Ca mg-Proz.	CaO mg-Proz.
Linkes Großhirn	6,51	20	1,00	1,00	15,4	21,6
Rechtes „	6,58	33,3	1,44	0,86	13,1	18,4
Kleinhirn . . .	2,64	100	2,68	0,54	20,4	28,6
Medulla u. Pons	1,54	100	1,33	0,27	17,5	24,5
Mittelhirn . . .	2,14	100	1,92	0,38	17,9	25,1
Summe . .	19,4	—	—	3,05	15,7	22,0

2. Größere Katze wurde am 2. Februar 1924 durch Entbluten getötet, am folgenden Tage das Gehirn seziert.

Hirnteil	Gewicht g	Von der Aschenlösung zur Analyse Proz.	Verbraucht n/100 Permanganat ccm	In der Asche gefunden mg Ca	Ca mg-Proz.	CaO mg-Proz.
Linkes Großhirn	9,06	100	5,08	1,02	11,2	15,7
Rechtes „	8,80	100	6,15	1,23	14,0	19,6
Kleinhirn . . .	3,12	100	2,61	0,52	16,7	23,4
Medulla u. Pons	1,63	100	0,69	0,14	8,5	11,9
Mittelhirn . . .	1,80	100	1,53	0,31	17,0	23,8
Summe . .	24,4	—	—	3,22	13,2	18,5

B. Calciumtiere.

3. Katze von 1,45 kg erhielt am 11. Januar 1924 im Laufe von 14 Minuten intravenös 14,5 ccm einer Calciumchloridlösung mit 0,854 Proz. Ca, also 0,085 g Ca je Kilogramm. 20 Minuten nach Ende der Injektion war das Tier schwer gelähmt, und zwar an den hinteren Extremitäten vollständig, an den vorderen partiell. Allmählich wurde das Tier bewußtlos und starb $1\frac{1}{2}$ Stunden nach Ende der Injektion. Hirnsektion am folgenden Tage, wobei die Medulla am hinteren Kleinhirnrande durchtrennt wurde: sie blieb im Zusammenhang mit dem Mittelhirn.

[1]) Diese Zeitschr. **143**, 342, 1923.

Hirnteil	Gewicht	Von der Aschenlösung zur Analyse	Verbraucht n/100 Permanganat	In der Asche gefunden	Ca	CaO
	g	Proz.	ccm	mg Ca	mg-Proz.	mg-Proz.
Linkes Großhirn	11,56	33,3	2,56	1,60	13,8	19,3
Rechtes „	11,25	40	2,17	1,08	9,6	13,5
Kleinhirn . . .	3,76	100	2,57	0,51	13,6	19,0
Mittelhirn mit Brücke u. Teil der Medulla	3,34	100	4,48	0,90	26,8	37,5
Summe . .	30,0	—	—	4,09	13,6	19,1
Unzerteiltes Gehirn .	31,0	—	—	—	—	—

4. Kater von 3,00 kg erhielt am 19. Dezember 1924 im Laufe von 30 Minuten intravenös 24 ccm einer Calciumacetatlösung mit 1,25 Proz. Ca, also 0,10 g Ca je Kilogramm. Nach dem Abbinden war das Tier bewegungsfähig, lief allerdings unter starkem Taumeln und baldigem Versagen der Hinterhand, um sich schließlich flach hinzulegen. Nach 1 ¼ Stunden neurologische Diagnose (Prof. *Stern*): Parese der Hinterhand mit Hypotonie. 4 ½ Stunden später deutliche Besserung, das Tier lief zwar noch stark taumelig, aber kräftiger als früher. Nach einer weiteren halben Stunde hatte auch das Taumeln sehr nachgelassen, doch fiel das Tier beim Sprunge vom Tische unbeholfen auf den Bauch. Es wurde aufgebunden und entblutet. starb 6 ¼ Stunden nach Ende der Calciuminjektion.

Hirnteil	Gewicht	Von der Aschenlösung zur Analyse	Verbraucht n/100 Permanganat	In der Asche gefunden	Ca	CaO
	g	Proz.	ccm	mg Ca	mg-Proz.	mg-Proz.
Linkes Großhirn	9,25	20	1,03	1,03	11,1	15,5
Rechtes „	9,50	20	1,75	1,75	18,4	25,8
Kleinhirn . . .	3,91	100	3,18	0,64	16,3	22,8
Medulla u. Pons	2,04	100	1,55	0,31	15,2	21,3
Mittelhirn . . .	3,19	100	2,11	0,42	13,2	18,5
Summe . .	27,9	—	—	4,15	14,9	20,8
Unzerteiltes Gehirn .	28,6	—	—	—	—	—

5. Kater von 2,40 kg erhielt am 19. Dezember 1924 im Laufe von 20 Minuten intravenös 25 ccm der Lösung eines Doppelsalzes von glutaminsaurem und salzsaurem Calcium (der Firma Bayer in Elberfeld) mit 1,09 Proz. Ca, also 0,113 g Ca je Kilogramm. Danach war das Tier völlig bewegungsunfähig, lag platt auf dem Bauche, reagierte jedoch durch Erheben des Kopfes auf Vorhalten einer Maus. Später geriet das Tier in einen Zustand schwerer Benommenheit, der stundenlang andauerte, bis es 4 ¾ Stunden nach Ende der Injektion starb.

Hirnteil	Gewicht	Von der Aschenlösung zur Analyse	Verbraucht n/100 Permanganat	In der Asche gefunden	Ca	CaO
	g	Proz.	ccm	mg Ca	mg-Proz.	mg-Proz.
Linkes Großhirn	8,87	20	1,00	1,00	11,3	15,8
Rechtes „	8,95	20	0,77	0,77	8,6	12,0
Kleinhirn . . .	3,30	100	3,82	0,76	23,2	32,5
Medulla u. Pons	2,15	100	1,56	0,31	14,4	20,2
Mittelhirn . . .	2,40	100	1,89	0,38	15,8	22,1
Summe . .	25,7	—	—	3,22	12,5	17,5
Unzerteiltes Gehirn .	26,1	—	—	—	—	—

6. Katze von 1,72 kg erhielt am 8. Dezember 1924 im Laufe von 5 Minuten intravenös 15 ccm einer Lösung von hexosephosphorsaurem Calcium (nach *Robison* hergestellt von Bayer, Elberfeld) mit 1,15 Proz. Ca, also 0,10 g Ca je Kilogramm. Danach zeigte das Tier deutliche Symptome von „Taumellähmung", die sich im Laufe der nächsten Stunden verschlimmerten. Als der Zustand des Tieres bedrohlich schien, wurde es $5^3/_4$ Stunden nach der Injektion durch Entbluten getötet.

Hirnteil	Gewicht g	Von der Aschenlösung zur Analyse Proz.	Verbraucht n/100 Permanganat ccm	In der Asche gefunden mg Ca	Ca mg-Proz.	CaO mg-Proz.
Linkes Großhirn	6,37	100	2,75	0,55	8,6	12,0
Rechtes „	6,28	100	4,01	0,80	12,8	17,9
Kleinhirn . . .	2,50	100	2,40	0,48	19,2	26,8
Medulla	1,23	100	0,30	0,06	4,9	6,8
Mittelhirn . . .	2,21	100	3,30	0,66	29,8	41,7
Summe . .	18,6	—	—	2,55	13,7	19,2
Unzerteiltes Gehirn .	18,7	—	—	—	—	—

III. Erörterung der Ergebnisse am Gehirn.

Es ist dabei zweckmäßig, die von *Jungmann*, *Samter* und *Hecht*[1]) mitgeteilten Zahlen mit heranzuziehen, da sie das Material vergrößern. Dabei sind die beiden *chronisch* mit kleinen Calciumdosen behandelten Tiere (*Hecht*, Versuche 3 und 4) den *Normaltieren* gleichzusetzen, da sie keine Vergiftungssymptome aufwiesen. In der Tabelle I finden sich die erhaltenen Analysenzahlen für die einzelnen Gehirnteile in der Weise berechnet, daß der mittlere Calciumgehalt des *Gesamthirns* gleich 100 gesetzt wurde.

Tabelle I. Gehirn.

Autor	Nr.	Ca-Vergiftung	Mittlerer Ca-Gehalt des Gesamthirns mg-Proz. CaO	Ca-Gehalt in Proz. des mittleren Ca-Gehaltes des Gesamthirns: Großhirn linkes	Großhirn rechtes	Kleinhirn	Mittelhirn	Medulla u. Pons
Heubner	1	0	22,0	98	84	129	114	111
„	2	0	18,5	85	106	126	129	64
Hecht	3	0	8,6	107	92	91	114	
„	4	0	7,6	96	99	105	105	
Jungmann u. *Samter*	1	+	22,1	76	81	**210**	—	—
„	2	+	24,7	59	117		125	
Heubner	3	+	19,1	101	71	100	**197**	—
„	4	+	20,8	75	124	109	89	102
„	5	+	17,5	90	69	**186**	126	115
„	6	+	19,2	63	93	140	**218**	35

[1]) a. a. O.: diese Zeitschr. 144, 265 u. 270, 1924.

Die Zahlen für den mittleren Calciumgehalt des Gesamthirns wurden aus der Summe der erhaltenen Einzelergebnisse für die verschiedenen Hirnteile, bezogen auf die Summe ihrer Gewichte, ermittelt. Sie bewegen sich zwischen 7,6 und 24,7 mg-Proz. CaO mit dem Mittel 18,1; in 33 früheren Analysen von Hirnsubstanz normaler und subkutan mit Calcium behandelter Katzen, die größtenteils nach einer abweichenden Methode und von anderen Analytikern ausgeführt worden waren, hatten sich Werte zwischen 5,0 und 24,4 mg-Proz. CaO und das Mittel 14,5 ergeben[1]). Die Übereinstimmung ist also so befriedigend, wie man bei Zahlen mit solcher Variationsbreite überhaupt erwarten kann.

Aufmerksamkeit verdient vielleicht die Tatsache, daß im Gehirn akut vergifteter Tiere niemals so niedrige Calciumwerte ermittelt wurden, wie sie bei unvergifteten vorkommen. In dem Gesamtmaterial von 19 Tieren mit Hirnanalysen, das ich bisher übersehe, finden sich siebenmal Werte zwischen 5 und 9 mg-Proz. CaO — daneben allerdings auch Zahlen bis 24. (Dabei sind sechs Tiere eingerechnet, die mit *kleinen* Calciumdosen behandelt waren.) Unter 13 Tieren, die größere Calciumdosen erhielten, findet sich ein einziges Mal die Zahl 10, alle übrigen liegen über 13. Bei den sechs *intravenös* vergifteten Tieren (vgl. Tabelle I) ist der niedrigste Wert sogar nur 17,5 mg-Proz. CaO. Natürlich kann dies Zufall sein, und wie immer bei statistischen Betrachtungen wird man sich hüten müssen, ein kleines Zahlenmaterial zu bindenden Schlußfolgerungen zu verwerten.

Die gleiche Vorsicht ist geboten bei der Betrachtung der Calciumwerte für die verschiedenen Einzelteile des Gehirns. Variationen wurden auch da bereits früher gefunden, z. B. zwischen rechter und linker Hirnhälfte, die 100 Proz. nahe kamen; auch in den auf Tabelle I verzeichneten Versuchen sind solche Unterschiede zwischen rechter und linker Großhirnhälfte zu finden, am stärksten im Versuch 2 von *Jungmann* und *Samter*[2]). Trotz der auch darin wieder zum Ausdruck kommenden Regellosigkeit scheint doch im großen und ganzen beim Großhirn die Neigung zu höheren Calciumwerten geringer zu sein als beim Kleinhirn und Mittelhirn. Dies tritt an den calciumvergifteten Tieren noch wesentlich deutlicher hervor als bei den unbehandelten: finden sich doch in meinen Versuchen 3 und 6 für das Mittelhirn, im Versuch 5 für das Kleinhirn Zahlen zwischen 33 und 42 mg-Proz. CaO, die recht erheblich über den für das Großhirn gefundenen Maximalzahlen, besonders aber über den entsprechenden Werten für das Großhirn der gleichen Tiere liegen, wie die prozentische Berechnung der Tabelle I anschaulich zeigt. Man wird bei dieser Sachlage geneigt

[1]) Diese Zeitschr. **98**, 357, 1919; **135**, 258, 265, 270, 1923.
[2]) Ebendaselbst **144**, 269, 1924.

sein, auch den Wert für das Kleinhirn im Versuch 1 von *Jungmann* und *Samter* (46,4 mg-Proz. CaO) für annähernd richtig zu halten, obwohl wegen der für die benutzte Methode geringfügigen Substanzmenge Zweifel an der Exaktheit dieser Zahl erhoben werden mußten[1]).

In dem Versuch 2 von *Jungmann* und *Samter* wurde (bei genügender Substanzmenge) für den ganzen Hirnstamm mit Kleinhirn die Zahl von 31 mg-Proz. gefunden, die ebenfalls höher liegt als alle Werte bei unvergifteten Tieren; auffallend war allerdings in diesem Versuch auch der hohe Wert von 29 mg-Proz. für *eine* Großhirnhälfte gegenüber einem halb so großen Wert für die andere. Jedoch waren bei diesem Tiere, das mit dem Calciumsalz einer Hexosephosphorsäure vergiftet worden war, auch in anderen Organen (Muskel, Leber) stark wechselnde und abnorm hohe Zahlen ermittelt worden; man sieht sich also genötigt, auch in diesem Versuch den hohen Wert für den Hirnstamm mit Kleinhirn als *Folge* der Calciuminjektion anzusehen.

Die fünf besprochenen Versuche scheinen gegenüber den Befunden an vier nicht vergifteten Tieren dafür zu sprechen, daß *bei akuter Calciumvergiftung einzelne Regionen des Hirns, und zwar in erster Linie Mittelhirn und Kleinhirn, reicher an Calcium werden.*

Eine schwerwiegende Ausnahme bildet allerdings Versuch 4, in dem sich in allen Hirnteilen etwa gleiche und nirgends über die normale Variationsbreite hinausgehende Calciummengen fanden. Jedoch darf man vielleicht zögern, in diesem Befund bereits einen zwingenden Grund zur endgültigen Ablehnung der eben ausgesprochenen Annahme zu erblicken; denn ohne Zweifel befand sich das Tier bereits in einem Stadium der *Erholung von der Vergiftung*, als es getötet wurde, während die übrigen fünf Tiere dieser Versuchsreihe bei vollster Ausprägung der charakteristischen Symptome zum Tode und zur Analyse kamen. Ob das angewandte *Salz* (nämlich Acetat) für die Abweichung auch in Betracht kommt, läßt sich nicht entscheiden; als sehr wahrscheinlich möchte ich es nicht bezeichnen, weil der Vergiftungsverlauf nach Calciumacetat nicht anders ist wie nach Calciumchlorid, und weil bei den übrigen Tieren die lokale Anreicherung einzelner Hirnteile prinzipiell übereinstimmend festzustellen war, obwohl zwei Tiere (*Jungmann* und *Samter*, Versuch 1, und *Heubner*, Versuch 3) das Calcium als salzsaures, zwei Tiere (*Jungmann* und *Samter*, Versuch 2, und *Heubner*, Versuch 6) als hexosephosphorsaures, und ein Tier (Versuch 5) als Komplexsalz mit einer Aminosäure erhalten hatten.

Ich will nicht in den Fehler verfallen, auf diesem schwierigen Gebiet, wo die physiologische Variabilität die Basis für Vergleichsuntersuchungen so unsicher macht, voreilige Schlußfolgerungen zu ziehen. Ich glaube

---

[1]) Diese Zeitschr. **144**, 267, 1924.

jedoch, daß man nach den mitgeteilten Befunden Grund genug hat, in der vorgezeichneten Richtung weiter zu suchen und bei Vergrößerung des Materials auf eine Entscheidung zu hoffen. Im Gegensatz zu den früheren Untersuchungen, die irgend einen Anhalt für Calciumspeicherung *nicht* geliefert hatten, muß man bei der Betrachtung des bisherigen Materials über die Einzelteile des Gehirns für möglich und vielleicht sogar wahrscheinlich halten, daß eine Anreicherung von Calcium in gewissen, eng umschriebenen Teilen des Gehirns mit den Symptomen der Calciumvergiftung in Beziehung steht.

Nimmt man dazu die früher gezogene Schlußfolgerung, daß bei der Calciumvergiftung schwer lösliche Salze in kolloidaler Verteilung ausschlaggebend sind — was übrigens die *wechselvolle* Anhäufung (Kleinhirn oder Mittelhirn und dergleichen) verständlich machen könnte —, so kann man Berührungspunkte zu *histologischen* Beobachtungen an den Hirnen gesunder und kranker Individuen finden: *Hugo Spatz*[1]) lenkte die Aufmerksamkeit darauf, daß in einer Anzahl von grauen Kernen des Mittelhirns und Kleinhirns, vor allem im Globus pallidus und in der Substantia nigra, allgemein jedoch in allen Zentren des „extrapyramidalen motorischen Systems" sich *eisenhaltiges* Material in feiner Verteilung angehäuft findet, und daß bei gewissen Erkrankungen mit extrapyramidaler Starre eine *Vermehrung* dieses Eisens auftritt.

Andere Untersucher haben diese Beobachtungen im ganzen bestätigt[2]). Hier scheint also auch ein Zusammenhang zwischen Anhäufung fein verteilter anorganischer Substanz und Störungen des Bewegungsapparats aufgedeckt zu sein. Da die Symptome bei der Injektion von Eisenphosphat in feiner Verteilung den durch Calciumsalze herbeigeführten gleichen können, so darf diese Analogie ins Auge gefaßt werden. Histologische Untersuchungen an calciumvergifteten Tieren, die bereits begonnen wurden, müssen hier weitere Klärung zu schaffen suchen.

IV. Befunde an anderen Organen.

Die im Absatz II erwähnten Versuchstiere wurden auch zu einigen weiteren Analysen benutzt, die das frühere Material in einigen Punkten ergänzen sollten. Von den Normaltieren wurden *Sehnen* und *Arterien* untersucht. Die Sehnen — als Repräsentanten fast reinen Bindegewebes — wurden vom Knie und Hinterfuß abpräpariert. Die Aorta wurde vom Herzen an bis ins Becken sauber frei präpariert, ebenso die großen, von ihr abzweigenden Gefäße, der ganze Arterienbaum ausgeschnitten, durch Pressen und Waschen vollkommen von Blut befreit, gut abgetupft und gewogen.

[1]) Zeitschr. f. d. ges. Neurol. u. Psychiatrie **77**, 261; **78**, 641, 1922; Klin. Wochenschr. 1923, S. 617.

[2]) *Wuth*, Zeitschr. f. d. ges. Neurol. u. Psychiatrie **84**, 474, 1923; *Max Müller*, ebendaselbst **77**, 519, 1922; *Lubarsch*, Arch. f. Psychiatrie u. Nervenkrankheiten **67**, 1, 1922; *Gans*, Brain **46**, 128, 1923.

Tabelle II.
Sehnen und Arterien.

Nr.	Calcium-zufuhr	Organ	Zur Analyse g	Verbraucht n/100 Permanganat ccm	Gefunden mg Ca	Ca mg-Proz.	CaO mg-Proz.
2	θ	Sehnen	1,41	2,49	0,50	**35,4**	**49,5**
2	θ	Arterien	1,41	2,53	0,51	**35,8**	**50,0**
1	θ	„	1,15	2,44	0,49	**42,4**	**59,3**

Die erhaltenen Zahlen liegen höher, als sie in irgendwelchen Organen der gleichen Tierart sonst festgestellt wurden; am nächsten kommen ihnen die Werte für den Enddarm[1]).

Das Tier des Versuchs 6 hatte Calcium als *Hexosephosphat* erhalten. In einem früheren Versuch, den *Jungmann*, *Samter* und *Hecht* bearbeiteten, war ebenfalls ein solches Präparat injiziert worden; dabei hatte sich (4½ Stunden nach der Injektion) eine ungewöhnlich starke Anhäufung von Calcium an einzelnen Stellen der Muskulatur, in der Leber und in anderen Organen gezeigt, vor allem aber auch noch im Blutserum. Das damals verwendete Präparat war allerdings nicht genau identisch mit dem jetzt verwendeten, das nach einer neueren Methode hergestellt ist[2]).

Analysen von Leber- und Muskelstücken des Tieres 6, das fast 6 Stunden überlebt hatte, ergaben keine so abnorm hohen Werte, während das *Blut* sich ebenso verhielt wie bei dem erwähnten früheren Tiere (vgl. Tabellen III und IV).

Tabelle III.
Leber und Muskel im Versuch 6.

Organ	Zur Analyse g	Aschen-lösung Proz.	Verbraucht n/100 Permanganat ccm	In der Asche gefunden mg Ca	Ca mg-Proz.	CaO mg-Proz.
Leber	5,64	100	5,43	1,09	19,3	27,0
„	7,22	50	2,17	0,87	12,0	16,8
„	6,04	100	5,07	1,01	16,8	23,5
Muskel	7,00	50	2,82	1,13	16,1	22,6
„	8,92	20	1,23	1,23	13,8	19,3

Das Blut wurde in *mehrfacher* Weise analysiert: einmal das Gesamtblut, zweitens das abgetrennte *Serum* unter Veraschung, drittens das Serum unter *direkter* Fällung des Calciums mit Oxalat nach *de Waards* Vorgang. Die beiden letztgenannten Werte, die durch Doppelanalysen sichergestellt wurden, wichen weit voneinander ab (vgl. Tabelle IV);

[1]) Diese Zeitschr. **135**, 260, 271, 1923.

[2]) Beide Präparate verdanke ich der Freundlichkeit der Farbenfabriken vorm. Friedrich Bayer & Co. in Elberfeld, denen auch hier bestens gedankt sei.

nach Injektion von hexosephosphorsaurem Calcium muß also im Blute das Calcium zum Teil in einer maskierten, stark komplex gebundenen Form zirkulieren. Dies erklärt auch die Tatsache einer Steigerung des normalen Calciumgehalts auf das Fünf- bis Sechsfache der Norm ohne merkliche Vergiftungssymptome von seiten des Herzens.

In ähnlicher Weise wurde das Blut des Versuchstiers 4 verarbeitet, das Calciumacetat erhalten und 6¼ Stunden überlebt hatte; hier war der Calciumgehalt wesentlich geringer als bei dem Hexosephosphat, doch immer noch wesentlich höher als in der Norm. Dabei scheinen die Blutkörperchen einen recht beträchtlichen Anteil des Calciums aufgenommen zu haben. Eine Andeutung für einen geringen Betrag stark komplex gebundenen Calciums war ebenfalls vorhanden (vgl. Tabelle IV). Im Vergleich zu unseren früheren Untersuchungen[1]) verschwindet also schon das Acetat langsamer aus dem Blute als das Chlorid; freilich soll der Hinweis nicht versäumt werden, daß unsere früheren Dosen erheblich kleiner waren als die jetzt verwendeten (23 gegen 100 mg Ca je Kilogramm).

Tabelle IV. Blut in den Versuchen 6 und 4.

Nr.	Calciumzufuhr als	Blutprobe	Zur Analyse ccm	Form der Analyse	Verbraucht n/100 Permanganat ccm	Gefunden mg-Proz.	Ca mg-Proz.	CaO mg-Proz.
6	Hexosephosphat	Gesamtblut	1	verascht	1,67	0,33	33,4	24,9
6	"	Serum	2	"	5,44	1,09	54,9	76,9
6	"	"	2	"	5,54	1,11		
6	"	"	2	direkt gefällt	3,34	0,67	32,8	45,9
6	"	"	2	"	3,22	0,65		
4	Acetat	Gesamtblut	1	verascht	0,89	0,18	17,8	24,9
4	"	Serum	1	"	1,01	0,20	20,2	28,3
4	"	"	2	direkt gefällt	1,74	0,17	17,7	24,7
4	"	"	2	"	1,79	0,18		

Zusammenfassung.

1. Analysen der verschiedenen Einzelteile des Gehirns deuten darauf hin, daß bei der akuten Calciumvergiftung — zum Unterschied von allen anderen Organen — umschriebene Bezirke, vor allem im Mittelhirn und Kleinhirn, reicher an Calcium werden.

2. Sehnen und Arterien sind reicher an Calcium als andere Organe.

3. Nach Zufuhr von hexosephosphorsaurem Calcium behält das Blutserum lange Zeit einen sehr hohen Calciumgehalt, von dem ein erheblicher Anteil nicht unmittelbar mit Oxalat zu fällen ist.

Die Kosten der Untersuchung wurden durch eine Zuwendung der *Notgemeinschaft der deutschen Wissenschaft* bestritten, der hierdurch öffentlich gedankt sei.

[1]) Diese Zeitschr. **98**, 187, 199ff., 1919.

Ein Beitrag zur Chemie des Kreatinins.

Von

Joseph Kapfhammer.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut der Universität Leipzig.)

(Eingegangen am 27. Januar 1925.)

Vor einiger Zeit erschien eine Mitteilung von *Dox* und *Yoder* (2), wonach es ihnen gelungen sei, Ester des Kreatins herzustellen, indem sie nach der alten, insbesondere bei den Aminosäuren vielfach bewährten Methode die alkoholische Suspension mit Salzsäuregas sättigten und das Chlorhydrat des Esters durch Zusatz von trockenem Äther zum Auskristallisieren brachten. Zum Beweis führten sie die gut stimmenden Stickstoff- und Chloranalysen ihrer Produkte an, die sie mit Methyl-, Äthyl- und n-Butylalkohol aus Kreatin auf diese Weise erhalten hatten. Den ins Molekül eingetretenen Alkohol haben sie direkt nicht nachgewiesen. Dies schien mir notwendig zu sein, ebenso wie eine weitere Diskussion und Untersuchung der Substanzen. Denn würden sich die Angaben der amerikanischen Autoren bewahrheiten, so läge eine neue Klasse von Verbindungen vor.

Ester von Guanidosäuren sind bisher noch nicht beschrieben worden; auch nicht andere Abkömmlinge der Säuren, wie Metallsalze, Chloride, Amide usw., Verbindungen, die bei den Aminosäuren leicht dargestellt werden können. Überhaupt ist die Chemie der Guanidinabkömmlinge noch recht lückenhaft. Außer Guanido*säuren* und ihren Salzen mit Säuren gibt es nur noch mannigfach substituierte alkylierte, arylierte und azylierte Guanidinbasen und ihre Salze mit Säuren. Guanidinverbindungen, die den Aminoalkoholen und Aminocarbonylverbindungen und ihren Abkömmlingen — Ester, Acetale — entsprechen, sind noch nicht bekannt, einzelne Versuche zu ihrer Herstellung ergebnislos verlaufen. Um so dringender erschien es mir, die Angaben von *Dox* und *Yoder* nachzuprüfen. Ich ging dabei von der Überlegung aus, daß das Chlorhydrat eines Esters des Kreatins

die gleiche prozentische Elementarzusammensetzung hat wie ein kristallalkoholhaltiges Kreatininchlorhydrat.

$$\begin{array}{ll} \text{COOR} & \text{CO}\text{———}\text{NH} \\ | & |\qquad\quad | \qquad \text{ROH, HCl.} \\ \text{CH}_2\text{.N(CH}_3\text{)C(NH)NH}_2\text{.HCl} & \text{CH}_2\text{.N(CH}_3\text{)C(NH)} \end{array}$$

Kreatin kristallisiert mit 1 Mol. Wasser, das schon bei 100° leicht und quantitativ entweicht. Kreatinin wird im allgemeinen wasserfrei erhalten, beim langsamen Verdunsten seiner kaltgesättigten Lösung entstehen jedoch Prismen mit 2 Mol. Kristallwasser, die im Exsikkator schon bei Zimmertemperatur abdunsten. Kreatininchlorhydrat kristallisiert mit 1 Mol. Wasser. Verbindungen mit Kristallalkohol sind nicht bekannt geworden. Kristallalkohol wird vermutlich leicht entweichen, vielleicht auch beim Wechseln des Lösungsmittels ausgetauscht werden können. Beide Überlegungen haben die amerikanischen Autoren angestellt. Das mit Methylalkohol bereitete Chlorhydrat ließ sich aus Äthylalkohol ohne Änderung des Schmelzpunkts umkristallisieren. Ich habe den Versuch wiederholt und das Ergebnis bestätigt. Die Substanzen von *Dox* und *Yoder* stellen reproduzierbare Individuen dar und weisen die von der Theorie verlangte Zusammensetzung auf. Ich habe sie ganz durchanalysiert. Dagegen weichen sie in ihrem Verhalten doch erheblich ab von dem, was man erwarten müßte, wenn das Kreatin in ihnen als Stammkörper noch vorhanden ist. Ich halte sie für Verbindungen von Kreatinin mit Alkohol; dieser ist in unbekannter Weise fest gebunden und liegt nicht als Kristallalkohol vor.

Bereitung des Chlorhydrats mit Methylalkohol.

3 g wasserfreies Kreatin wurden mit 30 ccm wasserfreiem, über Calciumoxyd frisch destilliertem Methylalkohol übergossen; in diese Suspension wurde 1 Stunde lang getrocknetes Chlorwasserstoffgas eingeleitet. Nach dem Überschichten des Reaktionsprodukts mit Äther kristallisierte (im Eisschrank) eine Substanz aus, die nach dem Trocknen über Kaliumhydroxyd und Schwefelsäure im Vakuumexsikkator bei Zimmertemperatur 2,74 g wog und bei 138 bis 139° schmolz. (*Dox* und *Yoder* geben Schmelzpunkt 139 bis 140° an.) Bei einer angenommenen Zusammensetzung von $C_5H_{11}O_2N_3 \cdot HCl$ (Molekulargewicht 181,61) hätte die Ausbeute im besten Falle 4,14 g betragen können; erhalten wurden also 66 Proz. der theoretisch möglichen Ausbeute. Zur Analyse wurde aus trockenem Methylalkohol noch einmal umkristallisiert und, wie oben angegeben, bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Zu den Analysen dienten Präparate mehrfach wiederholter Darstellungen.

1.	4,604 mg e	5,55 mg CO_2	2,765 mg H_2O
2.	4,240 „ „	5,21 „ „	2,510 „ „
3.	4,605 „ „	5,60 „ „	2,830 „ „
4.	3,965 „ „	0,7748 ccm N_2	Hg = 768 mm, $T = 19^0$
5.	8,250 „ „	6,640 mg AgCl	

Ber. f. $C_5H_{12}O_2N_3Cl$				
(Mol.-Gew. 181,6)	33,02 Proz. C	6,66 Proz. H	23,14 Proz. N	19,53 Proz. Cl
Gef.	33,04 „ „	6,72 „ „	23,07 „ „	19,91 „ „
	33,5 „ „	6,62 „ „		
	33,17 „ „	6,86 „ „		

Die Substanz entspricht also der angenommenen Zusammensetzung und enthält 1 Mol. Alkohol. Dieser ist fest gebunden.

0,3189 g der bei Zimmertemperatur im Vakuumexsikkator getrockneten Substanz wurden 12 Stunden lang im Hochvakuum bei 0,05 mm und 110⁰ über Phosphorpentoxyd und Kaliumhydroxyd bis zur Gewichtskonstanz gehalten; sie nahmen dabei 0,0084 g ab. Wäre „Kristallalkohol" vorhanden gewesen, so hätte er wohl bei dieser Behandlung entweichen müssen; hierfür berechnet sich aber eine Gewichtsabnahme von 0,071 g, d. h. etwa neunmal soviel, als tatsächlich gefunden wurde. Der Methylalkohol muß also in anderer Weise als das Kristallwasser gebunden sein. Durch Umkristallisieren dieses Methylderivats aus absolutem Äthylalkohol wurde eine Substanz erhalten, die den gleichen Schmelzpunkt (138 bis 139^0) und die gleiche Elementarzusammensetzung aufwies.

4,945 mg e	5,985 mg CO_2	2,930 mg H_2O
Ber.	33,02 Proz. C	6,66 Proz. H
Gef.	33,02 „ „	6,63 „ „

Bereitung des Chlorhydrats mit Äthylalkohol.

Es wurde wie oben und entsprechend den Angaben von *Dox* und *Yoder* verfahren. In eine Aufschwemmung von 3,0 g trockenem Kreatin in 30 ccm wasserfreiem Alkohol wurde unter Kühlung mit Eis-Kochsalz etwa eine halbe Stunde lang in kräftigem Strome gut getrocknetes Salzsäuregas geleitet, bis das Kreatin sich vollständig gelöst hatte. Bald begannen beim Stehen in dem Kältegemisch Kristalle auszufallen. Nach 12stündigem Stehen im Eisschrank wird das gleiche Volumen Äther zugegeben und damit die Abscheidung vervollständigt. Der Niederschlag wird sofort abgesaugt und mit Äther sorgfältig gewaschen. Die Substanz zeigt lufttrocken einen Schmelzpunkt von 160 bis 162^0; sie wird einmal aus Äthylalkohol umkristallisiert. Der Schmelzpunkt ist jetzt scharf 163^0; erhalten wurden 1,80 g oder 40 Proz. der Theorie an reinem Chlorhydrat; aus der Mutterlauge wurden weitere Mengen, die bei 159^0 schmolzen, erhalten.

Zur Analyse diente die Substanz vom Schmelzpunkt 163°, die im Vakuum über Calciumchlorid noch 3 Tage bei Zimmertemperatur gehalten worden war, ohne dabei ihr Gewicht zu ändern.

1.	4,670 mg e	7,280 mg CO_2	3,100 mg H_2O
2.	4,166 ,, ,,	5,615 ,, ,,	2,700 ,, ,,
3.	4,205 ,, ,,	0,78206 ccm N_2	Hg = 770 mm, $T = 22^0$

Ber. für $C_6H_{14}O_2N_3Cl$ (Mol.-Gew. 195,6) .	36,8 Proz. C	7,21 Proz. H	21,48 Proz. N
Gef.	36,69 ,, ,,	7,42 ,, ,,	21,77 ,, ,,
	36,81 ,, ,,	7,25 ,, ,,	

Auch der Äthylalkohol ist fest gebunden und entweicht nicht, wenn die trockenen Kristalle bei höherer Temperatur gehalten werden.

0,2567 g wurden über Calciumchlorid im Vakuum bei 100° nach etwa 10 Stunden konstant und hatten nach 25 Stunden 6,6 mg verloren, etwa $^1/_{10}$ des Gewichts vom Alkohol. Auch als 0,2990 g täglich 6 Stunden bei 110° im Hochvakuum über Phosphorpentoxyd und Kaliumhydroxyd gehalten wurden, trat nur während des ersten Tages ungefähr der gleiche Gewichtsverlust ein, im ganzen hatte sie nach 3 Tagen 10,7 mg verloren gegenüber einem berechneten Gehalt an Äthylalkohol von 70,4 mg.

In wässeriger Lösung wird in der Siedehitze aus dem Chlorhydrat Alkohol abgespalten. Das Chlorhydrat wurde in n/10 Salzsäure gelöst und gekocht; mit den ersten Tropfen des Destillats ließ sich die Jodoformprobe anstellen.

Bereitung des Chlorhydrats mit n-Butylalkohol.

Es wurde in entsprechender Weise bereitet. Die Ausbeute an analysenreiner Substanz vom angegebenen Schmelzpunkt (138°) betrug 65 Proz.

1.	4,115 mg e	6,530 mg CO_2	3,010 mg H_2O
2.	3,998 ,, ,,	6,290 ,, ,,	2,950 ,, ,,
3.	4,330 ,, ,,	6,840 ,, ,,	3,260 ,, ,,
4.	4,750 ,, ,,	6,78008 ccm N_2	Hg = 766 mm, $T = 21^0$
5.	7,040 ,, ,,	4,850 mg AgCl	

Ber. f. $C_8H_{18}N_3O_2Cl$ (Mol.-Gew. 223,7)	42,93 Proz. C	8,11 Proz. H	18,79 Proz. N	15,98 Proz. Cl
Gef.	43,15 ,, ,,	8,18 ,, ,,	19,22 ,, ,,	16,21 ,, ,,
	42,92 ,, ,,	8,09 ,, ,,		
	43,10 ,, ,,	8,42 ,, ,,		

Bisher ist festgestellt, daß die Chlorhydrate der amerikanischen Autoren reproduzierbare Individuen von der angegebenen Zusammen-

setzung sind; sie enthalten einen Alkohol in ihrem Molekül fest gebunden, der von den trockenen Kristallen auch bei höherer Temperatur hartnäckig festgehalten wird, sich aber in wässeriger saurer Lösung beim Erwärmen ablöst. Um locker gebundenen Kristallalkohol kann es sich also nicht handeln. Es blieb daher weiterhin zu untersuchen, ob ein Abkömmling des Kreatin oder des Kreatinin vorliegt.

Die kalt bereitete wässerige Lösung der Chlorhydrate rötet Lackmus, bläut Kongo nicht und gibt starke Fällung mit Phosphorwolframsäure, Pikrinsäure, Kaliumwismutjodid in m/50 Lösung. Mit Sublimat fällt weder die wässerige noch die alkoholische Lösung des Chlorhydrats, auch nicht in m/5 Konzentration. Die wässerige, mit Sublimat versetzte Lösung gibt aber noch eine Fällung in einer Verdünnung 1 : 6000, wenn Soda zugesetzt wird. Jodjodkali fällt nicht die wässerige, Platinchlorid nicht die alkoholische Lösung des Chlorhydrats, letzteres im Gegensatz zum Verhalten des Kreatininchlorids. Sie verhält sich also im allgemeinen genau wie Kreatinin und nicht wie Kreatin. Die Lösungen geben ferner *sofort* nach dem Zusatz von Natronlauge die Farbreaktionen von *Weyl* und *Jaffé*, letztere auch in alkoholischer Lösung unter Zusatz von Natriumäthylat. Auch das spricht dafür, daß ein Kreatininderivat fertig gebildet vorliegt und nicht erst beim Zusatz der Natronlauge aus Kreatin entsteht, was außerdem den Bedingungen widerspricht, unter denen sich Kreatin in Kreatinin umwandelt.

Für Kreatin geben *Harden* und *Norris* (4) eine Farbreaktion mit Diacetyl an; sie fällt nur mit den offenen Guanidosäuren positiv aus. Ich konnte das Verhalten von Guanidoessigsäure, γ-Guanidobuttersäure, ε-Guanidocapronsäure und Arginin prüfen. Besonders stark zeigen die Reaktion die entsprechenden methylierten Guanidosäuren vom Typus des Kreatin. Ringkörper vom Typus des Kreatinin geben die Reaktion nicht (z. B. Glykocyamidinchlorhydrat). Die vorliegenden „Ester" lassen die Farbreaktion ebenfalls vermissen. Auch danach scheint also kein Kreatin mehr vorzuliegen.

Zur weiteren Sicherung meiner Angabe, daß in den angeblichen Estern neuartige Derivate des Kreatinin vorliegen, habe ich dieses unter milden Bedingungen daraus isoliert.

1. Isolierung von Kreatinin-Zinkchlorid aus dem methylalkoholhaltigen Chlorhydrat.

0,25 g der Substanz wurden in 50proz. Alkohol gelöst und mit 2,5 ccm heißem Alkohol, der 0,2 g Chlorzink enthielt, versetzt. Es fielen Kristalle von der typischen Form des Kreatinin-Zinkchlorids

aus; sie wurden abgesaugt und aus Wasser umkristallisiert. Es wurden 80 Proz. der Theorie erhalten.

1. 0,0782 g e	0,0174 g ZnO	
2. 0,0736 g „	0,0163 g „	
Ber. für $(C_4H_7N_3O)_2ZnCl_2$((Mol.-Gew. 362,5).		18,03 Proz. Zn
Gef.		17,88 „ „
		17,8 „ „

Da hier bei saurer Reaktion gefällt wurde, könnte der Einwand erhoben werden, daß die Verbindung bei der Isolierung erst entstanden ist. Die weiteren Versuche zur Isolierung wurden daher bei alkalischer Reaktion ausgeführt.

2. Isolierung von freiem Kreatinin aus dem methylalkoholhaltigen Chlorhydrat mit Diäthylamin in alkoholischer Lösung nach Breuer (1).

1,0 g des Chlorhydrats wurden mit 12 ccm absolutem Äthylalkohol aufgeschwemmt, mit 0,5 ccm Diäthylamin versetzt und 18 Stunden lang bei Zimmertemperatur geschüttelt, bis der Niederschlag chlorfrei war. Dann wurde abgesaugt, mit 6 ccm absolutem Äthylalkohol gewaschen und bei Zimmertemperatur im Exsikkator über Kaliumhydroxyd und Schwefelsäure bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Ausbeute 0,5 g. Für Kreatinester berechnen sich 0,8 g; für Kreatinin 0,61 g. Da Kreatinin in Alkohol 1 : 625 löslich ist, können in der alkoholischen Mutterlauge noch 0,1 g gelöst geblieben sein, d. h. die theoretische Ausbeute ist nahezu erreicht worden. Der Versuch wurde in gleicher Weise noch zweimal wiederholt, wobei es schon genügte, 10 bzw. 12 Stunden mit der Base zu schütteln.

1. 4,635 mg e	7,290 mg CO_2	2,695 mg H_2O	
2. 2,95 „ „	0,95746 ccm N_2	Hg = 752 mm, $T = 21^0$	
Ber. für den freien Ester			
(Mol.-Gew. 145,1)	41,34 Proz. C	7,64 Proz. H	28,96 Proz. N
Gef.	42,91 „ „	6,51 „ „	37,29 „ „
Ber. für Kreatinin	42,4 „ „	6,86 „ „	37,1 „ „

3. Isolierung von freiem Kreatinin aus dem butylalkoholhaltigen Chlorhydrat.

Es war nötig, 10 Stunden zu schütteln. Erhalten wurde wieder sofort reines alkoholfreies Kreatinin.

1. 4,262 mg e	6,625 mg CO_2	2,500 mg H_2O	
2. 3,100 „ „	0,9771 ccm N_2	Hg = 752 mm, $T = 21^0$	
Ber. für den freien Ester			
$C_8H_{17}O_2N_3$ (Mol.-Gew. 187,2)	51,3 Proz. C	9,15 Proz. H	23,07 Proz. N
Gef.	42,40 „ „	6,56 „ „	37,29 „ „
Ber. für Kreatinin	42,4 „ „	6,86 „ „	37,1 „ „

4. Isolierung von freiem Kreatinin aus dem äthylalkoholhaltigen Chlorhydrat mit Diäthylamin in benzolischer Lösung.

1 g des Chlorhydrats (Schmelzpunkt 163°) wurde in 20 ccm frisch über Natrium destilliertem Benzol aufgeschlemmt und mit 0,4 ccm Diäthylamin eine halbe Stunde lang bei Zimmertemperatur geschüttelt. Dann wurde abgesaugt und dem Rückstand das Diäthylaminchlorhydrat durch Chloroform entzogen, er enthielt dann immer noch Chlor, besteht also zum Teil noch aus der unveränderten Ausgangssubstanz und wird daher erneut mit 20 ccm Benzol und 0,4 ccm Amin 10 Stunden lang geschüttelt. Als dann abgesaugt und auf dem Filter mit Benzol und Chloroform gewaschen worden war, zeigte sich der Rückstand (0,42 g) chlorfrei; in seiner wässerigen Lösung fielen die Reaktionen von *Jaffé* und *Weyl* sofort stark positiv aus. Auch die Analyse beweist, daß alkoholfreies Kreatinin vorliegt.

1. 4,339 mg e[1]	6,870 mg CO_2	2,615 mg H_2O	
2. 4,492 „ „	7,07 „ „	2,745 „ „	
Ber. für Kreatinin	42,4 Proz. C	6,86 Proz. H	
Gef.	43,2 „ „	6,74 „ „	
	42,94 „ „	6,84 „ „	

Die verschiedenen Versuche, aus den Chlorhydraten die Salzsäure abzutrennen und auf diese Weise zum freien Ester zu kommen, haben stets als Endprodukt alkoholfreies Kreatinin ergeben. Wenn ich auch noch so sorgfältig gearbeitet habe, indem ich das Wasser bei der Reaktion völlig ausschloß und die Dissoziation der Base durch die Wahl des Medium weitgehend zurückdrängte, stets wurde der Alkohol aus dem Molekül gleichzeitig mit dem Chlor abgelöst. Das Ergebnis dieser Versuche zusammengehalten mit dem positiven Ausfall der Farbreaktionen von *Weyl* und *Jaffé* unter Bedingungen, wo kein Kreatinin aus Kreatin entsteht, mit dem negativen Ausfall der Farbreaktion mit Diacetyl auf Kreatin, genügt meiner Meinung nach, die Anschauung von *Dox* und *Yoder* fallen zu lassen. In ihren Substanzen liegen keine Esterchlorhydrate vor. Trotzdem handelt es sich um neuartige Substanzen. Denn für eine feste Bindung von Alkohol ist im Kreatininchlorhydrat kein Platz mehr frei. Ihre Struktur bleibt uns daher weiterhin unbekannt.

Zum Schluß möchte ich noch anfügen, daß Herr Dr. *Kanitz* die Dissoziationskonstante der zugrunde liegenden Base bestimmt hat: sie ist etwa von der gleichen Größenordnung, wie sie dem Kreatinin zukommt (3), paßt also ganz und gar nicht zu der starken Base Methylguanidin, die zum Vorschein kommen müßte, wenn das Carboxyl seinen sauren Charakter durch die Veresterung verloren hätte. Die Versuche werden im hiesigen Institut weiter fortgeführt.

Zusammenfassung.

1. Die angeblichen Kreatinester von *Dox* und *Yoder* sind Derivate des Kreatinin.

2. Der Alkohol ist im Kreatininchlorhydrat fest gebunden.

3. Die Salzsäure läßt sich nicht entfernen, ohne daß auch der Alkohol abgelöst wird.

Die Arbeit wurde teilweise mit Mitteln ausgeführt, die ich der Rockefeller-Stiftung verdanke.

Literatur.

1) *Breuer*, Ber. d. deutsch. chem. Ges. **31**, 2193, 1898. — 2) *Dox* und *Yoder*, Journ. of biol. Chem. **54**, 671, 1922. — 3) *Hahn* und *Barkan*, Zeitschr. f. Biol. **72**, 25, 1920. — 4) *Harden* und *Norris*, Journ. of Physiol. **42**, 332, 1911.

Versuche über die Kalikontraktur.

Von

Albrecht Bethe und **Franz Franke.**

(Aus dem Institut für animalische Physiologie des Theodor-Stern-Hauses, Frankfurt a. M.)

(Eingegangen am 29. Januar 1925.)

Mit 3 Abbildungen im Text.

Über die Kontraktur, welche beim Eintauchen eines Muskels in isotonische Lösungen von Kalisalzen oder in Gemische solcher Lösungen mit Ringerlösung eintreten, gibt es zahlreiche Angaben von *Burridge*[1], *Rossi*[2], *Riesser*[3], *Behrendt*[4]) und anderen. Bereits *Burridge* hat der Kalikontraktur eine besondere Bedeutung zugeschrieben, indem er alle anderen Kontrakturen aus ihr abzuleiten suchte. Nach *Riesser* soll sie zu *den* Kontrakturen gehören, welche von der rezeptiven Substanz des Muskels (*Langley*) ihren Ursprung nimmt, also eine echte Erregungskontraktur sein. Schließlich hat vor kurzem *Neuschlosz*[5] die tonischen Verkürzungen des Muskels mit der Wirkung von Kaliumionen in Zusammenhang gebracht, indem er im Anschluß an *Zondek*[6] eine Mobilisation und darauffolgende festere Bindung von Kaliumionen unter dem Einfluß gewisser Nervenerregungen annimmt.

Dieses erneute Interesse, welches dem Kalium als Kontraktursubstanz entgegengebracht wird, rechtfertigt es, jetzt noch einige Beobachtungen zu veröffentlichen, welche zum Teil schon ziemlich lange zurückliegen, bisher aber unveröffentlicht blieben, weil sie ursprünglich in einigen Punkten noch weitergeführt werden sollten.

Die *Kalikontraktur* (hervorgerufen durch isotonische Lösungen) zeigt nicht an allen Muskeln (von Rana temporaria, Rana esculenta und Bufo vulgaris) das gleiche Bild. Am Gastrocnemius entwickelt sie sich nicht sehr schnell und geht nur sehr langsam und unvollständig zurück. Beim Semimembranosus bildet sie sich trotz seiner nicht viel geringeren Dicke, schneller aus und geht wesentlich schneller und voll-

[1]) *Burridge*, Journ. of Physiol. **42**, 359, 1911.
[2]) *E. Rossi*, Zeitschr. f. Biol. **56**, 253, 1911.
[3]) *O. Riesser*, Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **92**, 254, 1922.
[4]) *H. Behrendt*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **118**, 123, 1922.
[5]) *S. M. Neuschlosz*, Pflügers Arch. **199**, 410, 1923, **207**, 42 u. 52, 1925 und *Neuschlosz* u. *Trelles*, ebendaselbst **204**, 374, 1924.
[6]) *Zondek*, diese Zeitschr. **32**, 332, 1922.

ständiger zurück, wie bereits *Behrendt*[1]) gezeigt hat. Ähnlich verhält sich der Tibialis anterior. Beim Sartorius schließlich steigt die Kurve sehr schnell an, um, wie schon *Rossi*[2]) hervorgehoben hat, schon nach wenigen Sekunden wieder abzusinken und nach 1 bis 3 Minuten die alte Abszissenachse zu erreichen (Abb. 1).

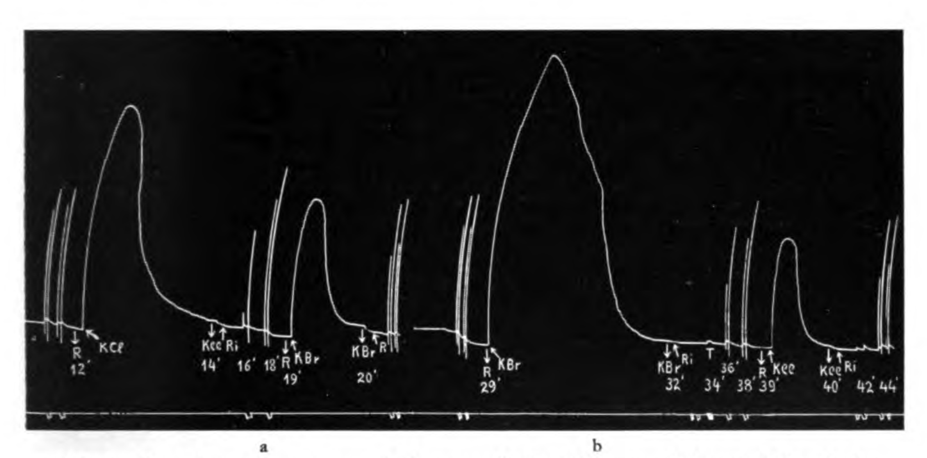


Abb. 1. Kontraktur und spontaner Rückgang nach Einwirkung von KCl und KBr auf den Sartorius von Rana temporaria (Weibchen). Versuch vom 15. VIII. 1921. a) Linker Muskel: Zuerst Prüfungsreize (R A = 0 cm), dann KCl, dann Erholung in Ringer, dann KBr, dann wieder Erholung in Ringer. (Dauer des ganzen Versuchs 10 Minuten.) b) Dasselbe am rechten Muskel in umgekehrter Reihenfolge. Hier, da geprüft, die Unerregbarkeit nach der Kalieinwirkung und die schnelle Erholung sehr deutlich zu sehen. Unten Reizsignal.

Am besten lassen sich diese Verhältnisse bei Sommer- und Herbstfröschen zeigen. Bei Winterfröschen sind die Unterschiede geringer, und die Kontrakturen gehen langsamer zurück.

Die Tatsache des mehr oder weniger schnellen Absinkens erscheint der Ansicht von *Neuschlosz*, daß gewisse Dauerkontraktionen (tonische Verkürzungen) durch Umlagerung des im Muskel vorhandenen Kaliums zustande kommen, nicht sehr günstig, da tonische Verkürzungen oft sehr viel länger anhalten können, als es trotz größerer gebotener Kaliummenge bei der reinen Kaliumkontraktur der Fall ist. *Neuschlosz*[3]) hat sich aber bereits in einer neueren Arbeit dahin ausgesprochen, daß zu der vermehrten Kaliumbindung noch etwas Weiteres hinzukommen müsse.

In manchen Kaliumsalzen, besonders in Lösungen höherer Konzentrationen kann sich, wie bereits *Rossi* gezeigt hat, lange Zeit nach vollkommener Lösung der primären Verkürzung eine zweite, langsam einsetzende und *dauernde* Verkürzung einstellen. Da sich der Muskel während derselben trübt, so kann man sie wohl als Absterbeverkürzung ansehen.

---

[1]) *H. Behrendt*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **118**, 162, 1922.
[2]) *E. Rossi*, Zeitschr. f. Biol. **56**, 253, 1911.
[3]) *S. M. Neuschlosz*, Pflügers Arch. **204**, 42, 1925.

Die *elektrische Erregbarkeit* nimmt, wie zuerst *Overton*[1]) genauer untersucht hat, in Kalisalzlösungen schnell ab, und zwar nicht in allen Muskeln gleich schnell (z. B. im Sartorius schneller als in den kurzen Fußmuskeln). Nach *Behrendt*[2]) erlischt die Erregbarkeit im Gastrocnemius wesentlich schneller als im Semimembranosus, überdauert aber bei beiden Muskeln die Lösung der Kontraktur. Beim Sartorius erlischt die elektrische Erregbarkeit nach unseren Befunden meist schon während des Absinkens der Kontraktur und ist nach ihrer Lösung immer ganz aufgehoben (Abb. 1b). In Ringerlösung kehrt die elektrische Erregbarkeit schnell wieder (Abb. 1a und b). Das Schwinden der Erregbarkeit entwickelt sich in verschiedenen Kalisalzlösungen, wie bereits *Overton* hervorgehoben, verschieden schnell ($K_2SO_4 > KNO_3 > KBr > KCl$).

In früheren Untersuchungen[3]) wurde gezeigt, daß durch HCl, NaOH und Chloroform noch Kontrakturen von normaler Höhe hervorgerufen werden können, wenn der Muskel *durch KCl* (mit Ringerlösung im Verhältnis 1 : 9 bis 1 : 4 gemischt) für elektrische Reize *gelähmt ist*. Wir haben diese Versuche nach Lähmung mit *isotonischen* Lösungen von KCl, KBr und K_2SO_4 wiederholt und gefunden, daß die Chloroformverkürzung auch dann noch unvermindert eintritt und daß sie erst nach einer mehrere Stunden anhaltenden Lähmung vermindert wird (wie auch *Rossi* angegeben hat). Die NaOH- und HCl-Kontraktur wird dagegen unter diesen Umständen wesentlich schneller herabgesetzt, aber nicht aufgehoben.

Andererseits haben wir Versuche über die Kalikontraktur nach *vorhergehender Narkose* mit Propyl- und Amylalkohol oder mit Salicylamid gemacht und gefunden, daß die Kalikontraktur auch bei vollkommener elektrischer Unerregbarkeit noch recht gut und relativ schnell eintritt, wenn sie auch in der Höhe gegen die Kontrolle immer herabgesetzt erscheint. Auch nach Lähmung durch Rohrzuckerlösung[4]) erhält man noch gute Kalikontrakturen. Die Kalilösung enthielt dabei stets das Narkoticum in derselben Konzentration, die vorher zur Narkose angewandt war.

[1]) *Overton*, E. Pflügers Arch. **105**, 188 u. 199, 1904.

[2]) *H. Behrendt*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **118**, 162, 1922.

[3]) *Bethe, Fraenkel* und *Wilmers*, Pflügers Arch. **194**, 45, 1922.

[4]) Hier sei erwähnt, daß wir einen großen Teil der von *Bethe, Fraenkel* und *Wilmers* (a. a. O.) angestellten Narkose-Kontrakturversuche noch einmal unter verschärften Bedingungen mit fast übereinstimmendem Erfolg nachgemacht haben. Hervorzuheben ist, daß Chloroform in einigen Versuchen nach Lähmung des Muskels mit Rohrzucker wesentlich schneller und zu erheblich *größeren* Kontrakturen führte als bei Behandlung des normalen Kontrollmuskels. Man kann dieses Verhalten wohl damit in Zusammenhang bringen, daß nach *Embden* und *Adler* „Rohrzuckernarkose" die Muskelfasergrenzschichten auflockert (Zeitschr. f. physiol. Chem. **118**, 1, 1922).

Vergleich der Kontrakturen bei Einwirkung verschiedener Kalisalze.

Verglichen wurden in Versuchen an Sartorien von Rana temporaria die Wirkungen von KCl, KBr, KJ und Kaliumsalicylat, zu denen später noch einige Versuche mit KNO_3 und K_2SO_4 hinzukamen; außerdem in Versuchen an Bufo vulgaris KCl, KNO_3, K_2SO_4 und KCNS[1]). Die Versuche sind wegen der Verwendung verschiedener Tierarten nicht ohne weiteres miteinander vergleichbar. Immerhin lassen sie sich zu einem einheitlichen Bilde vereinigen, in dem als tertium comperationis die KCl-Wirkung diente.

Da die Kontrakturhöhen auch bei etwa gleich langen Muskeln und demselben Salze nicht gleich sind, so konnten nicht die absoluten Werte zum Vergleich dienen. Es wurde daher das schon früher von uns geübte Verfahren angewandt, die Kontrakturhöhe mit der maximalen Zuckungshöhe in Beziehung zu setzen, indem der Quotient aus Kontrakturhöhe und Zuckungshöhe (Q_V) gebildet wurde. Bei unseren ersten und einigen späteren Versuchen wurde an jedem Muskel nur ein Versuch gemacht. Die Q_V-Werte wurden dann in *der* Weise miteinander verglichen, daß das Mittel aus allen Versuchen mit einem Salze genommen wurde und die Werte für KCl gleich 100 gesetzt wurden. Später haben wir es für besser gehalten, an den beiden Muskeln eines Frosches immer je zwei Versuche mit einem Salz*paar* unter Zwischenschaltung einer Erholungszeit in Ringer zu machen, und zwar so, daß beim einen Muskel das eine, beim anderen das andere Salz zuerst zur Einwirkung gebracht wurde. Obwohl sich die elektrische Erregbarkeit, beurteilt nach der Zuckungshöhe, in der Ringerlösung nach der ersten Kalilähmung vollständig wieder herstellt (Abb. 1), so ist doch der Erfolg der zweiten Kalieinwirkung dann immer geringer als der der ersten, wenn es sich um das gleiche Kalisalz oder um Salz von deutlich stärkerer Kontrakturwirkung handelt. Der Erfolg ist meist auch dann geringer, wenn das zu zweit einwirkende Salz das bei weitem wirksamere ist, wie aus dem Vergleich mit der umgekehrten Reihenfolge der Einwirkungen hervorgeht (vgl. Abb. 1a und 1b und Tabelle I, welche einige Beispiele gibt). Die Wirksamkeit wurde dann durch Addition des Verhältnisses der Q_V (meist das Mittel aus mehreren Versuchen gleicher Art) in der einen und der anderen Einwirkungsfolge berechnet, z. B.:

$$\overrightarrow{Q_{V(KCl)} : Q_{V(KJ)}} = 195{,}5 : 191{,}7$$

$$\overleftarrow{Q_{V(KCl)} : Q_{V(KJ)}} = 135{,}7 : 361{,}5$$

$$KCl : KJ = 331{,}2 : 553{,}2 = 100 : 167$$

Aus nachstehendem Verfahren berechnet, verhält sich die kontrakturerzeugende Wirkung der vier am besten untersuchten Salze wie folgt:

KCl	$<$	KBr	$<$	Kaliumsalicylat	$<$	KJ
100		113		135		167

[1]) Diese Versuche wurden an Bufo vorgenommen, weil uns Temporarien ausgegangen waren. Alle genannten Salze wurden in Lösungen angewandt, die rechnungsmäßig einer n/9 NaCl-Lösung isotonisch waren.

Tabelle I.
Einwirkung zweier Kalisalze nacheinander am rechten und linken Sartorius von Rana temporaria.

1	2	3	4	5	6		7
Nr.	Datum 1921	Temperatur °C	Muskel	Kaliumsalz	Höhe der a Kontraktur	Höhe der b Zuckung	$\frac{a}{b} \cdot 100 = Q_K$
90	15. VIII.	20	rechts	Cl J	44 46	22,5 24	195,5 191,7
91	15. VIII.	20	links	J Cl	94 38	26 28	361,5 135,7
92	15. VIII.	20	rechts	Cl Br	45 27	27 33	166,6 81,8
93	15. VIII.	24(?)	links	Br Cl	58 22	30 29	193 75,8
94	16. VIII.	19,5	rechts	J Br	103 48	38 31,5	271 152,4
95	16. VIII.	19,5	links	Br J	94 94	44 38	213,7 247

Die auf dem ersten Wege gewonnenen Resultate ergaben bei Temporarien folgende Reihe:

$$\underset{100}{Cl} < \underset{110}{Br} \lesssim \underset{124}{SO_4} < \underset{155}{J} \leqq \underset{160}{NO_3}$$

Die Krötenversuche ergänzen die Reihe in folgender Weise:

$$\underset{95}{SO_4} < \underset{100}{Cl} < \underset{170}{NO_3} < \underset{180}{CNS}$$

Alle Versuche zusammengestellt, geben folgendes Bild:

$$SO_4 < Cl < Br < (SO_4) < \text{Salicylat} \leqq J < NO_3 < CNS.$$

Zweifelhaft erscheint nach den vorliegenden Versuchen nur die Stellung des SO_4, das bei Kröten schwächer oder ebenso stark wie Cl wirkt, während es in den angestellten Temporarienversuchen sicher stärkere Wirkungen zur Folge hatte.

Wie man aus diesen Zahlen ersehen kann, wird die *Kalikontraktur* nicht vom Kali allein bewirkt, sondern *durch das Anion bald mehr, bald weniger unterstützt.* Das war vorauszusehen, da ja wenigstens das Rhodan auch in den Salzen anderer Kationen, z. B. des Natriums, Kontrakturen hervorruft, während die Na- und NH_4-Salze des linken Endes in isotonischer Lösung nie Kontraktion bewirken. Man kann es natürlich auch anders auffassen und sagen, daß das Kalium an und für sich überhaupt keine Kontraktur macht, sondern am wenigsten der mehr oder weniger starken Kontrakturwirkung der Anionen entgegenwirkt. Jedenfalls erscheint es nicht richtig, von der *Kalikontraktur als etwas Spezifischem zu sprechen*[1]).

[1]) Siehe auch *P. Trendelenburgs* Versuche an Bronchialmuskeln. Arch. f. exper. Path. u. Pharm. 69, 96, 1912.

Die angegebene Anionenreihe ist sehr ähnlich denjenigen, welche von *Hofmeister* für die Quellung, von *Pascheles* für die Fällung von Gelatine und von *Pauli* für die Beschleunigung der Hitzekoagulation des Eiweiß gefunden worden sind[1].

Rossi[2] hat bereits verschiedene K-Salze mit Rücksicht auf die *Hofmeister*sche Reihe untersucht, *aber nicht* in bezug auf die *schnell erfolgende* und so gut reversible erste Kontraktur, sondern in bezug auf die sekundär nach längerer Zeit sich anschließende Dauerkontraktur (siehe S. 191). Er fand auch hier, in Übereinstimmung mit der Annahme, daß es sich bei dieser zweiten Kontraktur um eine Gerinnung handle, eine stärkere Wirkung bei *den* Salzen, welche nach *v. Fürth*[3] besonders geeignet sind, Myosin und Myogen zur *Koagulation* zu bringen.

Hier in *unseren Versuchen* wird es sich in Anbetracht der vollständigen Reversibilität in Ringerlösung und des schnellen und spontanen Zurückgehens der Kontrakturen in der Salzlösung selbst *um eine Gerinnung nicht handeln können.*

Die Autoren, welche gern alle Kontrakturphänomene auf *Quellungsvorgänge* zurückführen möchten, werden in der von uns gefundenen Reihe vielleicht eine Stütze für ihre Ansicht sehen, da ja auch bei der Quellung nicht nur die Reihenfolge der Anionen, sondern auch die Richtung ihrer Wirksamkeitszunahme dieselbe ist. Wir möchten uns einer solchen Annahme *nicht anschließen*, da es ja auch bei einer Quellung nicht einzusehen ist, warum sie ohne Schädigung (denn der Muskel wird ja in Ringer wieder gut erregbar) beim Fortwirken des Agens schnell wieder zurückgehen sollte. Die *Hofmeister*sche Reihe zeigt sich bei so vielen physiologischen[4] und physikalisch-chemischen Vorgängen als zutreffend, daß die Zuordnung der physiologischen Vorgänge zu bestimmten physikalisch-chemischen Prozessen reine Gefühlsangelegenheit bleibt, solange nicht andere Indizien nach der einen oder anderen Seite den Ausschlag geben.

Der Wirkungsort der Kalisalze.

Riesser[5] hat daraus, daß der Gastrocnemius beim partiellen Eintauchen in KCl-Lösung seine Hauptzusammenziehung *dann* zeigt, wenn der *Nerveneintritt* mit der Lösung in Berührung gebracht wird, den Schluß gezogen, daß es sich um eine Wirkung auf die rezeptive

[1]) Siehe *R. Höber*, Physikalische Chemie der Zelle, 5. Aufl., **1**, 267. Leipzig 1922.

[2]) *E. Rossi*, Zeitschr. f. Biol. **56**, 270, 1911.

[3]) *O. v. Fürth*, Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **37**, 389, 1896.

[4]) Siehe *R. Höber*, Physikalische Chemie der Zelle, 5. Aufl., **2**, 587ff. Leipzig 1922.

[5]) *O. Riesser*, Arch. f. experm. Path. u. Pharm. **92**, 254, 1922.

Substanz *Langleys* handle. Wir können den tatsächlichen Befund für den Gastrocnemius im wesentlichen bestätigen. Taucht man den Gastrocnemius, beginnend mit dem *proximalen* Ende, jedesmal um ein Viertel seiner Länge tiefer ein, so erhielten wir (Oktober 1923) beim ersten Viertel eine deutliche, beim zweiten Viertel eine starke und bei den beiden letzten Vierteln nur eine sehr geringe Kontraktur, manchmal sogar gar keine. Fingen wir aber mit dem *distalen* Ende an, so gab jedes der beiden ersten Viertel eine deutliche Kontraktur. Das dritte Viertel (Nerveneintritt) gab eine etwa doppelt so starke Verkürzung, das oberste Viertel meist gar keine oder nur eine geringe.

Andere Muskeln zeigen aber ein ganz anderes Verhalten, besonders der Sartorius, der sich zu allen solchen Versuchen natürlich viel besser eignet als der Gastrocnemius, weil die Verteilung seiner Nerven*endigungen* genau bekannt ist. Es kann sich ja doch wohl bei dem Suchen nach dem Erregungsort gar nicht um *die* Stelle handeln, wo das Nervenkabel in den Muskel eintritt, sondern nur um *die* Stelle, wo die Nervenendigungen sitzen. Am Sartorius erhielten wir auch von *den* Teilen, welche ziemlich sicher frei von Nervenendigungen sind (am untersten und obersten Ende), Kontrakturen, welche oft nicht kleiner waren als diejenigen, welche (nach vollständigem Rückgang der erst erzeugten Kontraktur) bei weiterem Eintauchen um ein ebenso großes Stück aus dem Gebiet *mit* Nervenendigungen in Erscheinung traten. Vor allem ist die Nerveneintrittstelle beim Sartorius durchaus nicht irgendwie durch eine besonders starke Kalikontraktur ausgezeichnet.

Die Versuche wurden in der Weise angestellt, daß der Muskel an dem von *Kopyloff*[1]) beschriebenen Hebel befestigt wurde. Das Gefäß mit der Kalilösung war an einem mit Zahn und Trieb versehenen Stativ angebracht. Durch diesen konnte es nach oben bewegt und der Muskel so stufenweise in die Lösung versenkt werden. Eine Skala neben dem Muskel ermöglichte es, etwa gleich große Bruchteile des Muskels bei jeder Senkung frisch eintauchen zu lassen. Dies geschah immer erst dann, wenn die vorige Kontraktur wieder *ganz* zurückgegangen war. Der Muskel wurde entweder in vier, fünf oder sechs Absätzen eingetaucht, meist mit dem proximalen Ende zuerst. Da das Kalisalz natürlich nicht nur transversal, sondern auch longitudinal in den Muskel hineindiffundiert, so wird immer ein Teil der Kontraktur des nächsten Abschnitts vorweggenommen, was sich besonders an den zuletzt eingetauchten Stücken in einer geringeren Kontraktion derselben zeigt.

Die Tabelle II gibt die Resultate eines Teiles unserer Versuche wieder. Zwei Versuche sind in Abb. 2 und 3 abgebildet. Wo in der Tabelle die vom proximalen Ende aus numerierten Muskelteile nicht ausgefüllt sind, dort ist der Muskel nicht in sechs Stufen, sondern nur in fünf oder vier Stufen eingetaucht worden. Beim Eintauchen in

[1]) *G. Kopyloff*, Pflügers Arch. **153**, 223, 1913.

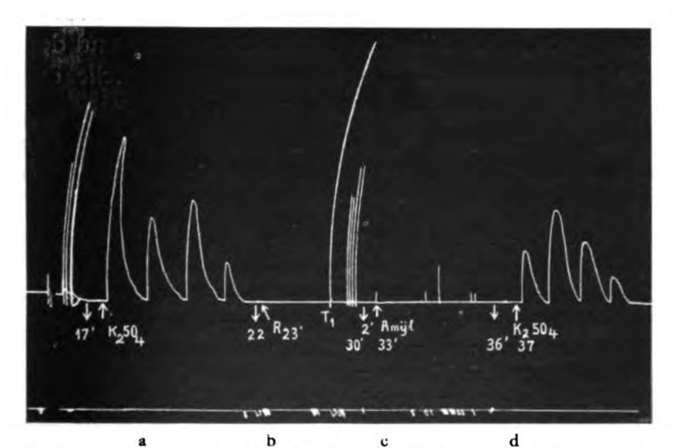
Tabelle II.

Q_{V}-Werte bei partiellem sukzessiven Eintauchen. Sartorius von Rana temporaria.

Nr.	Salz	1	2	3	4	5	6	Bemerkungen
56	KCl	15	29	12	8	4	5	
63	KCl	11	38	18	42	4	0	
67	KCl	18	31	16	13	13	—	Curare
58	KNO_3	5	23	30	43	16,5	16	
68	KNO_3 (Narkose)	51	49	36	21	—	—	0,5 proz. Amylalk.
69a	K_2SO_4	86	43	53	21	—	—	
69a	K_2SO_4 (Narkose)	37	68	31	18	—	—	0,5 proz. Amylalk.
69b	K_2SO_4	27	37	34	21	—	←*)	
69b	K_2SO_4 (Narkose)	3	30	20	10	—	←	
70	K_2SO_4	87	29	41	8	0	—	Curare
70	K_2SO_1 (Narkose)	27	14	18	4	5	—	0,5 proz. Amylalk.

*) In allen mitgeteilten Fällen begann das Eintauchen mit dem proximalen Ende (1); nur bei 69b wurde das distale Ende (4) zuerst eingetaucht.

sechs Stufen lag die Nerveneintrittsstelle etwa auf der Grenze von Teil 3 und 4 (gewöhnlich am proximalen Ende von Teil 4), beim Eintauchen in vier Absätzen am proximalen Ende oder in der Mitte von Teil 3. Die Tabelle zeigt, daß diese Stelle nur in einem Falle durch eine besonders starke Kontraktur ausgezeichnet ist. Im allgemeinen zeigt die zuletzt eingetauchte Stelle die geringste Kontraktur, besonders, wenn es das faserarme, distale Ende ist. In einigen Fällen zeigt das proximale Ende, wenn es zuerst eintaucht, bei weitem die höchste Kontraktur.



a b c d

Abb. 2. Sukzessives, partielles Eintauchen eines Sartorius von Rana temporaria in isotonische K_2SO_4-Lösung a) des frischen Muskels nach vorhergegangenen S.- und Ö.-Zuckungen, bei R A = 0 cm. Das proximale Ende taucht zuerst ein. Bei jedem Eintauchen schnelle, vorübergehende Kontraktur wechselnder Höhe. b) Erholung in Ringer. c) Narkose mit 0,5 proz. Amylalkohol. d) Wiederholung des Eintauchens in die Kaliumsulfatlösung (mit 0,5 proz. Amylalkohol). Das Maximum liegt an anderer Stelle (1. VIII. 1921). Unten Reizsignal.

Curarisieren der Muskeln gibt keinen anderen Erfolg. Ebenso bringt Narkose bis zum vollständigen Schwinden der Erregbarkeit keine wesentliche Änderung.

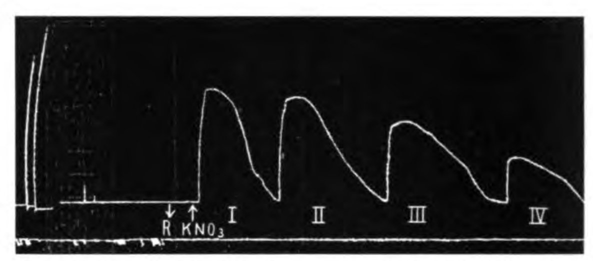


Abb. 3. Dasselbe wie Abb. 2 an einem mit Amylalkohol narkotisierten Sartorius mit KNO_3 (30. VII. 1921). Narkosebeginn an Unterbrechungsstelle der Fußpunktlinie. Bei R Ablassen der Narkoseflüssigkeit.

Siehe Abb. 2 und 3 und Versuche 69a, 69b und 70 der Tabelle II. Die Muskeln wurden zuerst mit dem Kalisalz frisch behandelt; dann wurde dieses mit Ringer ausgewaschen, bis die Erregbarkeit wiedergekehrt war, und dann narkotisiert, bis die Erregbarkeit wieder ganz erloschen war. Hierauf wurde der Versuch mit dem gleichen Kalisalz unter Zusatz des Narkoticums wiederholt. Nach dem oben Gesagten fallen die Kontrakturen niedriger aus, nicht nur wegen der Narkose, obwohl auch diese etwas herabsetzt, sondern vor allem wegen der vorhergehenden Kalikontraktur.

Versuche mit anderen Muskeln, welche einen einfacheren Bau zeigen als der Gastrocnemius und welche wie der Sartorius mehr parallelfaserig sind, z. B. mit dem Semimembranosus und dem Tibialis anterior zeigten, daß auch hier die *Nerveneintrittsstelle* durch *keine* besondere Anspruchsfähigkeit ausgezeichnet ist.

Man wird also aus dem allen den Schluß ziehen dürfen, daß *die „Kalikontraktur“ auf einer direkten Einwirkung auf die Muskeln beruht.*

Diesen Schluß hat auch *Neuschlosz*[1]) aus Versuchen gezogen, bei denen er den Gastrocnemius in zwei Teile teilte (einen proximalen längeren, der die Nerveneintrittsstelle enthielt, und einen kürzeren distalen) und jeden für sich eintauchte, wobei sich der letztere verhältnismäßig ebenso stark zusammenzog wie der erstere. Solange wir aber über die Verteilung der Nervenendigungen im Gastrocnemius nichts Genaues wissen, solange wird dieser Beweis nicht ganz stichhaltig sein. Überhaupt darf man wohl sagen, daß der Gastrocnemius wegen seines unübersichtlichen Baues für sehr viele Muskelversuche recht wenig geeignet ist und viel zu viel benutzt wird.

[1]) *S. M. Neuschlosz*, Pflügers Arch. **199**, 417, 1923; **207**, 27, 1925.

Tabelle III.

Spannungswerte (Q_{Sp}) und Verkürzungswerte (Q_V) von Sartorien von Bufo vulgaris, bemessen an Spannung bzw. Höhe des maximalen Tetanus.

Nr.	Datum 1921	Salz	Q_{Sp}	Q_V
12	10. VI.	K_2SO_4	34	70
14	11. VI.	K_2SO_4	41	61
26	21. VI.	K_2SO_4	44	74
16	13. VI.	KCl	29	70
10	9. VI.	KCl	25	61
18	14. VI.	KNO_3	38	86
17	13. VI.	KNO_3	37	119

Die durch Kalisalze erzeugte Spannung.

Wir haben in einer Anzahl von Versuchen mit der von *Bethe*[1]) benutzten Einrichtung an den beiden Sartorien von Kröten (Bufo) zugleich die Spannung und Verkürzung aufgezeichnet und mit einem maximalen Tetanus verglichen. Wie die Tabelle III zeigt, sind nicht nur die Q_V-Werte (Kontrakturhöhe dividiert durch maximale Tetanushöhe mal 100), bei den drei verglichenen K-Salzen recht verschieden (siehe S. 193), sondern auch die Q_{Sp}-Werte (maximale Kontrakturspannung dividiert durch maximale Tetanusspannung mal 100). K_2SO_4, das bei der Kröte in bezug auf die Verkürzung dem KCl nahe steht, gibt aber im Durchschnitt höhere Spannungswerte als KCl und auch höhere als KNO_3, welches stärkere Verkürzungen herbeiführt. *Spannung und Verkürzung gehen also nicht parallel.*

Im Mittel liegen die Spannungswerte bei etwa 35 Proz. der Tetanusspannung, also in einem ähnlichen Bereich, wie die Spannungswerte, die an Temporarien (!) durch NaOH und Galle gewonnen wurden[2]).

Zusammenfassung.

1. Die Kalikontraktur ist von der elektrischen Erregbarkeit des Muskels nur wenig abhängig. Auch in ziemlich tiefer Narkose (durch Propylalkohol usw.) und nach Rohrzuckerlähmung tritt sie ein. Offenbar handelt es sich um eine direkte Einwirkung auf die Muskelfaser, nicht aber um eine Wirkung auf die rezeptive Substanz *Langleys*. Dies geht auch daraus hervor, daß sowohl frische wie narkotisierte Sartorien (beim sukzessiven Eintauchen in kleinen Abschnitten) in der Gegend der Nerveneintrittsstelle *keine* besonders starke Kontraktur zeigen, und daß die von Nervenendigungen freien Muskelenden sich oft ebenso stark zusammenziehen wie die Mittelteile.

[1]) *A. Bethe*, Pflügers Arch. **199**, 506, 1923.
[2]) *A. Bethe*, ebendaselbst **199**, 498, 1923.

2. Die Kalikontraktur ist nichts Spezifisches. Das Kaliumion ist nur dasjenige unter den Alkaliionen, welches am meisten kontrakturfördernd oder (gegenüber den Anionen) am wenigsten kontrakturhemmend wirkt. Die Kontrakturwirkung der Kalisalze ist nämlich in hohem Maße vom Anion abhängig. Diese ordnen sich nach ihrer fördernden Wirkung in der *Hofmeister*schen Reihe:

$$(SO_4) < Cl < Br < J < NO_3 < CNS.$$

Dementsprechend wird auch die Rhodanwirkung nicht als spezifisch aufgefaßt werden können.

3. Die durch Kalisalze bewirkte Spannung der Muskeln beträgt etwa 35 Proz. der Tetanusspannung.

Über die scheinbare Umkehr der Richtung des Verletzungsstromes beim Gastrocnemius.

Von

W. Steinhausen.

(Aus dem Institut für animalische Physiologie des Theodor-Stern-Hauses, Frankfurt a. M.)

(Eingegangen am 29. Januar 1925.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Bei der Untersuchung des elektrischen Verhaltens des Muskels bei Einwirkung von Acetylcholin[1]) haben *Riesser* und ich folgendes gefunden: Betupft man die Nerveneintrittsstelle des Gastrocnemius (d. h. die obere proximale Muskelhälfte) mit Acetylcholin (1 : 100000 Ringer), so sieht man bei der Untersuchung mit dem Saitengalvanometer gleichzeitig bzw. etwas vor der Kontraktur des Muskels einen starken, konstanten, oszillationsfreien Strom auftreten. Das mit Acetylcholin betupfte (obere) Muskelende verhält sich dabei elektrisch *positiv* gegenüber dem unteren Ende. Da wir bei indirekter Reizung wenigstens im Anfang derselben eine Gleichstromresultante ableiten konnten, die dieselbe Richtung hatte, waren wir der Meinung, daß der Acetylcholinstrom vielleicht als Folge eines Erregungsvorganges angesehen werden könnte. Wir konnten für diese Annahme verschiedene andere Wahrscheinlichkeitsgründe anführen.

Inzwischen ist von *v. Neergard* eine Mitteilung erschienen[2]), die sich gleichfalls mit den elektrischen Erscheinungen der Acetylcholinverkürzung des Froschmuskels[3]) beschäftigt. Auch die Versuche von *v. Neergard* sind am Gastrocnemius angestellt. Da nichts Besonderes darüber mitgeteilt ist, nehme ich an, daß von beiden Enden des Muskels

[1]) *O. Riesser* und *W. Steinhausen*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **197**, 288–299, 1922.

[2]) *K. v. Neergard*, ebendaselbst **204**, 512–514, 1924.

[3]) Unsere Versuche stellten wir damals hauptsächlich an Krötenmuskeln an, die sich in ihrem Verhalten gegenüber Acetylcholin prinzipiell nicht von Froschmuskeln unterscheiden.

abgeleitet wurde. Das Acetylcholin wurde von der Iliaca aus injiziert. beobachtet wurde mit dem Saitengalvanometer. *v. Neergard* findet außer gelegentlich infolge fibrillärer Zuckungen auftretender Saitenunruhe *keine* Bewegung der Saite. Somit bestätigt er unsere Feststellung, daß bei der Acetylcholinverkürzung am Saitengalvanometer, abgesehen von den gelegentlich in Erscheinung tretenden Schwingungen infolge fibrillärer Zuckungen, *keine* Oszillationen zur Beobachtung kommen. Das Fehlen einer konstanten Potentialdifferenz bei der *v. Neergard*schen Anordnung beweist an sich noch nichts gegen unsere Vermutung, es könne die von uns abgeleitete Dauerablenkung des Galvanometers als Folge eines fortgeleiteten Erregungsvorgangs mit besonders frequenten Aktionsströmen aufgefaßt werden. Noch viel weniger geht daraus hervor, daß die Acetylcholinverkürzung überhaupt ohne elektrisches Äquivalent abläuft. Was das erstere anlangt, könnte man z. B. die Hypothese aufstellen, daß bei symmetrischer Ableitung und der symmetrischen Reizung — als solche könnte man die Zuführung des Acetylcholins auf dem Blutwege ansprechen —, eine symmetrische Interferenz eintreten könnte, deren Endeffekt Null ergibt. während bei der asymmetrischen Reizung eine von Null verschiedene Resultante, die eine dem gewöhnlichen Verletzungsstrom entgegengesetzte Richtung hätte, sich ergeben könnte.

Daß die Acetylcholinverkürzung ohne elektrisches Äquivalent einhergeht, ist an sich schon sehr unwahrscheinlich und wird direkt durch die registrierten Ströme bei unsymmetrischer Anordnung widerlegt. Es ist ja gerade die Beziehung zwischen Kontraktur und elektrischem Äquivalent, deren Aufklärung die Untersuchung der elektrischen Ströme im tierischen Gewebe sich zur Aufgabe macht. Die Untersuchung bei völliger Durchströmung des Muskels mit der betreffenden Substanz kann aber diese Beziehung nicht restlos klären. Aus diesem Grunde ist die Untersuchung mit unsymmetrischer Einwirkung unentbehrlich. Auch nur auf diese Weise wird sich eine quantitative Erfassung dieser Beziehung finden lassen. Die Versuche am Gastrocnemius zeigen, wie groß die Schwierigkeiten sind, die hier noch zu überwinden sind. Andererseits erscheint es sehr leicht möglich, daß die am Gastrocnemius erzielten Ergebnisse, gerade weil sie an einem Muskel gewonnen sind, bei dem die von der Norm abweichenden Verhältnisse besonders deutlich sind, auch bei der Untersuchung eines einfacher gebauten Muskels, z. B. des Sartorius, bei dem die Abweichung nicht so deutlich, aber doch vorhanden ist, angewandt werden können. Vielleicht läßt sich auf diese Weise eine Erklärung für die Abweichungen. die *Fischer*[1]) für den Kalistrom des Sartorius gefunden hat, anbahnen.

[1]) *E. Fischer*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **208**, 580—603. 1924.

Die von uns registrierte Dauerablenkung kann im Sinne eines gewöhnlichen Verletzungsstromes gedeutet und die umgekehrte Stromrichtung aus sekundären Nebenumständen erklärt werden. Diese sekundären Nebenumstände werden offenbar durch den komplizierten Bau des Gastrocnemius gegeben. Es zeigt sich, daß auch andere Substanzen, z. B. KCl und HCl und andere, bei denen ein komplizierter fortgeleiteter Erregungsvorgang nicht anzunehmen ist, bei derselben Applikationsart einen Dauerstrom erzeugen von gleicher Stromrichtung, wie wir ihn bei der Acetylcholinkontraktur gesehen haben, d. h. also, man erhält einen Strom, der so gerichtet ist, daß die proximale Ableitungsstelle positiv erscheint, wenn man vom proximalen und distalen Ende des Gastrocnemius zum Galvanometer ableitet und das proximale Ende mit der betreffenden Substanz betupft.

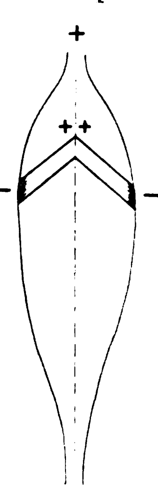


Abb. 1. Faserverlauf des Gastrocnemius (schematisch).

Als Ursache für die scheinbare Umkehr der Richtung des Verletzungsstromes kann der Faserverlauf angesehen werden. Dieser ist schematisch in der Abb. 1 angedeutet[1]). Die Fasern verlaufen von der proximalen Sehne, die im Innern des Muskels liegt, dachziegelförmig unter einem mittleren Winkel von nahezu 45° nach außen zum Achillessehnenspiegel. Wird nun das proximale Ende mit einer ein Verletzungspotential erzeugenden Substanz in Berührung gebracht, so wird bei der Ableitung von beiden Endsehnen die der berührten Stelle nächstliegende positiv, die entferntere Endsehne negativ. Es tritt also eine scheinbare Umkehr des Verletzungsstromes ein, die sich im übrigen schon bei *Hermann*[2]) erwähnt findet. Wenn sie im vorliegenden genauer untersucht wird, so liegt das daran, weil ihre genaue Erforschung für die Frage der Beziehung zwischen Kontraktur und elektrischem Äquivalent von besonderer Wichtigkeit zu sein scheint.

Für diese Untersuchung wurde folgendes Verfahren angewandt: Der frische Muskel wurde in eine Farblösung ganz oder teilweise eingetaucht und so lange darin gelassen, bis eine genügende Anfärbung sichtbar wurde, die Färbung aber beendet, bevor der Muskel ganz durchgefärbt war. Dann wurde diese Färbung fixiert. Meist wurde Methylenblaufärbung mit Fixation durch Ammoniummolybdat nach *Bethe* benutzt. Der Muskel wurde dann direkt unter der binokularen

[1]) Eine Darstellung des Faserverlaufs des Gastrocnemius findet sich bei *du Bois-Reymond*, Arch. f. Anat. u. Physiol. 1863, S. 529.
[2]) *L. Hermann*, Handb. 1, I. 201, 1879.

Lupe präpariert und die Anfärbung der einzelnen Fasern festgestellt. Läßt man den Muskel längere Zeit in Ammoniummolybdat, so wird die Sehnensubstanz zerstört, und man kann die Muskelfasern besonders leicht isolieren.

Dabei ergibt sich nun, daß bei Muskeln, die während der Färbung ganz in die Farblösung eingetaucht waren, die Hauptmasse der Fasern nur am distalen Ende angefärbt erscheinen, gleichgültig, mit welchem Ende nach unten der Muskel in die Farblösung eingetaucht worden war. Die Abb. 2 zeigt einen auf diese Weise gefärbten Gastrocnemius. Zur Sichtbarmachung der Anfärbung ist der Achillessehnenspiegel der Länge nach gespalten und die Fasern auseinanderpräpariert, bis zu ihrem Ansatz an der Mittelsehne. Man erkennt. daß die Anfärbung der auf diese Weise sichtbar gemachten Fasern nur an ihrem distalen Ende stattgefunden hat, während das proximale, nach oben gerichtete Ende ungefärbt erscheint. Gleichmäßig durchgefärbt erscheinen in der Abb. 2 nur die obersten Deckschichten am proximalen Muskelende, die den Muskel wie ein Runddach am oberen Ende abschließen. Auch die obersten Schichten auf der ventralen Muskelseite, die in der Abb. 2 nicht sichtbar werden, erscheinen stark gefärbt.

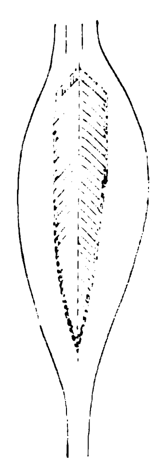


Abb. 2. Anfärbung der Fasern des Gastrocnemius. Die Anfärbung ist durch Strichelung angedeutet.

Mit der gleichen Methode läßt sich untersuchen. welche Fasern oder Faserteile bei der Applikation irgend einer chemisch wirksamen Substanz zuerst getroffen werden. Man hat nur nötig, der Substanz einen Farbstoff beizumischen und festzustellen, wo die Farbe eindringt. Betupft man den Gastrocnemius mit einer Farblösung in der Weise, wie es bei der Untersuchung des Acetylcholins meist geschehen ist. so läßt sich die Ausbreitung des Farbstoffs auf der Oberfläche und sein Eindringen in die Muskelsubstanz leicht feststellen. Man findet, daß bei einem Gastrocnemius, der mit dem proximalen Ende nach oben in einem Muskelhebel eingespannt ist, der mit einem Pinsel aufgetragene Farbtropfen, der Schwere folgend, sich nach unten ausbreitet. Die Entstehung eines aufwärts gerichteten Stromes, also eines Stromes. bei dem die ursprünglich mit Acetylcholin betupfte Stelle, bezogen auf die gesamte Muskelmasse, *positiv* erscheint, ist damit aus der Ausbreitungsart der chemischen Substanz sowie aus dem Faserverlauf sehr einfach erklärt.

Man kann die Ausbreitung der „Verletzungssubstanz" nach unten dadurch verhindern, daß man den Muskel horizontal ausspannt und ihn außerdem durch vertikal stehende Gummimembranen abteilt.

durch die der Muskel hindurchgesteckt wird. Aber auch in diesem Falle kann man unter Umständen bei Betupfen des proximalen Muskelendes einen umgekehrten Verletzungsstrom erhalten. Das tritt dann ein, wenn sich die Verletzungssubstanz weiter distal ausbreiten kann, als es der Länge der proximalen Deckfasern entspricht. Man erhält auch selbst dann einen umgekehrten Verletzungsstrom, wenn man das proximale Ende ganz in die Lösung der Verletzungssubstanz eintaucht, und zwar auch wieder dann, wenn man tiefer eintaucht, als daß nur die proximalen Deckfasern benetzt sind.

Von der Mitteilung von Versuchsprotokollen über die Größe der abgeleiteten Potentialdifferenzen unter Berücksichtigung des Faserverlaufs und der Eindringung der Verletzungssubstanz und die Beziehung dieser Ströme zur entstehenden Verkürzung soll vorläufig abgesehen werden, da sich eine quantitative Gesetzmäßigkeit bis jetzt nicht hat ableiten lassen. Aber offenbar darf bei allen derartigen Untersuchungen (auch beim Sartorius) der Faserverlauf und die dadurch bedingte verschiedene Eindringungsart der Verletzungssubstanz nicht vernachlässigt werden.

Zusammenfassung.

1. Der bei der Acetylcholinkontraktur am Gastrocnemius beobachtete konstante Strom kann als gewöhnlicher Verletzungsstrom gedeutet werden.

2. Die umgekehrte Richtung dieses Stromes ist bedingt durch den Faserverlauf.

3. Aus der Anfärbung des Muskels läßt sich die Richtung und Größe seines Verletzungsstromes für eine bestimmte Einwirkung einer Substanz ableiten.

Über die gefäßerweiternde Wirkung des Adrenalins und ihre Beziehung zum Sympathicus.

Von

E. Schilf und **W. Feldberg.**

(Aus der operativen Abteilung des physiologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 29. Januar 1925.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

A. Einleitung.

Die Wirkung des Adrenalins auf den Organismus bzw. auf seine Organteile ist mit einigen Ausnahmen dadurch gekennzeichnet, daß es dieselben Effekte zeitigt, die auch durch Reizung sympathischer Nerven zustande kommen. Dies hat dazu geführt, daß überall dort, wo Adrenalin wirksam ist, auf eine sympathische Innervation geschlossen wird.

Es ist nun schon wiederholt festgestellt worden[1]), daß die Adrenalinwirkung auch dann noch mehr oder weniger gut beobachtet werden kann, wenn die postganglionären Nerven durchschnitten und degeneriert sind. In den bis jetzt vorliegenden Arbeiten findet sich aber kein deutlicher Hinweis darauf, ob sich auch die *speziellen Eigentümlichkeiten* des Ablaufs einer Adrenalinwirkung bei solchen Versuchsobjekten zeigen, bei denen man die Zeit einer Degeneration der sichtbaren Nerven abgewartet hat. Fehlen in einem derartigen Präparat charakteristische Eigentümlichkeiten im Verlauf einer Adrenalinwirkung, so wäre dieser Befund von einiger Wichtigkeit. Denn die gefundenen Unterschiede könnten vielleicht auf die durch die Durchschneidung verursachten Veränderungen an den letzten Nervenendigungen bzw. der Neurocellularverbindungen, auf die das Adrenalin nach Ansicht einiger Autoren wirken soll, bezogen werden. Ein derartiges Versuchsergebnis würde zeigen, daß nach Degeneration der nervös-sympathischen

[1]) Siehe *Langley*, Autonomes Nervensystem, S. 34. Berlin, Verlag J. Springer, 1922.

Endorgane doch gewisse Ausfallserscheinungen der Adrenalinreaktion zustande kommen; man könnte wenigstens in einigen Punkten die Adrenalinwirkung mit der sympathischen Innervation in Beziehung bringen. Denn die bis jetzt gültige Tatsache der unveränderten Wirksamkeit des Adrenalins nach Durchschneidung und Degeneration postganglionärer Nervenfasern, zusammen mit den Fällen, in denen Adrenalin keinen Effekt zeitigt, obwohl eine Sympathicusreizung wirksam ist (z. B. Schweißdrüsen von Katze und Mensch), besagt eigentlich, daß zwischen Adrenalinwirkung und sympathischer Innervation wenig Beziehung besteht. Die Theorien, die über diesen Gegenstand geäußert werden, wollen wir nicht anführen.

Daß nun die Adrenalinreaktion entnervter Organe nicht dieselben Verlaufseigentümlichkeiten zu zeigen braucht, die sonst die Organe mit erhaltenen Nervenendigungen aufweisen, dafür schienen die erst kürzlich mitgeteilten Versuche von *Shimidzu*[1]) zu sprechen. Dieser Autor konnte feststellen, daß beim entnervten Blutgefäßpräparat (Kaninchenohr) die während der ersten 24 Stunden gewöhnlich auftretende Empfindlichkeitssteigerung, die eine Auswertung von Adrenalinlösungen sonst so erschwert, „fehlt oder doch viel schwächer ist“.

P. Trendelenburg, unter dessen Leitung die Arbeit von *Shimidzu* gemacht worden ist, hat aber zu der Arbeit eine kurze Anmerkung hinzugefügt, aus der hervorgeht, daß Gewebe mit degeneriertem Sympathicus dasselbe Verhalten in der Frage des Ansteigens der Adrenalinempfindlichkeit darbieten kann wie Gewebe, dessen Nerven noch vorhanden sind. Ein Ohrpräparat, das 45 Tage nach der Herausnahme des obersten Halsganglions und der Durchtrennung des Nerv. auricular. magn. untersucht wurde, zeigte nämlich starkes Ansteigen der Adrenalinempfindlichkeit im Verlauf des ersten Tages.

Hieraus ist doch wohl zu schließen, daß die Blutgefäße, deren Nerven degeneriert sind, selbst in ihrer feineren Reaktionsweise dem Adrenalin gegenüber sich genau so verhalten, als ob die Nervenendigungen noch erhalten seien.

Nun hat aber *Pearce*[2]) schon vor einigen Jahren über Versuche berichtet, deren Resultate sehr auffallend waren und, wie *Pearce* selbst zugegeben hat, nicht mit denjenigen der übrigen Autoren übereinstimmten. *Pearce* fand nämlich am *Laewen-Trendelenburg*schen Präparat, daß bei mehreren Präparaten einige Tage nach der Durchschneidung des Plexus lumbosacralis Adrenalin in schwachen und mittleren Dosen eine Gefäßerweiterung macht, die hinterher in Verengung übergehen kann. Diese Tatsache dürfte, wenn sie Bestätigung

[1]) *K. Shimidzu*, Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **104**, 254. 1924.
[2]) *R. G. Pearce*, Zeitschr. f. Biol. **62**, 243, 1913.

finden würde, doch darauf hinweisen, daß die Wirkung des Adrenalins in noch *unbekannter Art* mit sympathischer Innervation zusammenhängt. Die Befunde von *Pearce* stehen aber in einem gewissen Gegensatz zu der Beobachtung des oben erwähnten Autors *Shimidzu*, aus dessen Versuchen nicht herauszulesen ist, daß unter den von *Pearce* angegebenen Bedingungen die Gefäße sich auf Adrenalin erweitern. Allerdings hat *Pearce* an Fröschen gearbeitet, während *Shimidzu* das Kaninchenohr benutzte.

Zusammengefaßt ergibt sich folgender Tatsachenbestand: *Shimidzu* findet nach degenerativer Durchschneidung postganglionärer Fasern bzw. Herausnahme des Ganglions, daß die übliche Empfindlichkeitssteigerung des Adrenalins fehlt oder doch *schwächer vorhanden* ist. Aber *Trendelenburg* hat an einem Ohrpräparat, das *45* Tage nach Herausnahme des obersten Halsganglions und der Durchschneidung des Nerv. auricul. magn. zur Untersuchung kam, ein *starkes Ansteigen* der Adrenalinempfindlichkeit im Verlauf des ersten Tages gesehen. Und endlich *Pearce* beobachtet bei mehreren Präparaten einige Tage nach der Durchschneidung des Plexus lumbosacralis eine *gefäßerweiternde* Wirkung des Adrenalins.

Aus der Zusammenfassung ergibt sich keineswegs eine gute Übereinstimmung der Versuchsresultate. Um das Problem einer Lösung näher zu bringen, sollen die Versuche, die wir im folgenden anführen, beitragen.

Wir hatten uns schon einige Zeit mit dem nervösen Mechanismus der Gefäßdilatation beschäftigt. Hierzu gehörte auch das Studium der gefäß*erweiternden* Wirkung des Adrenalins. Diese Feststellung ist schon länger bekannt, so daß sie unter bestimmten Vorbedingungen unschwer erzielt werden kann. Für unsere Arbeit kamen die Versuche von *Bauer* und *Fröhlich*[1]) in Betracht. Die Autoren hatten berichtet. daß unter dem Einfluß *länger dauernder* Adrenalindurchströmung die Froschblutgefäße auf eine Adrenalininjektion mit einer Gefäßerweiterung antworteten. Sie machten die Annahme, daß die Erweiterung durch Erregung von sympathisch innervierten Vasodilatatoren zustande käme. Diese Meinung wollen wir hier nicht auf ihre Richtigkeit hin untersuchen, sondern nur die tatsächlichen Befunde verwerten.

Die Tatsache der Gefäßerweiterung durch Adrenalin ist als Umkehrung bezeichnet worden. Sie bedeutet eine Variation der sonst üblichen vasokonstriktorischen Adrenalinwirkung und sie kann sehr gut zur Beantwortung der Frage dienen, ob sich diese beim normalen Blutgefäßpräparat auftretende Modifikation der Adrenalinwirkung auch nach Degeneration der sympathischen Nerven hervorrufen läßt.

[1]) *J. Bauer* und *A. Fröhlich*, Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **88**, **33**, 1918.

Wir stellten uns daher die Aufgabe zu untersuchen, ob auch nach degenerativer Durchschneidung postganglionärer Fasern die von *Bauer* und *Fröhlich* gefundene Tatsache der Umkehrwirkung des Adrenalins auftritt. Gleichzeitig waren die Versuche von *Pearce* — gefäßerweiternde Adrenalinwirkung bei beginnender Nervendegeneration — nachzuprüfen.

B. Methodisches.

a) Zur Durchströmung.

Unsere Untersuchungen fielen in die Monate August, September, Oktober. Wir benutzten Esculenten, die frisch gefangen waren.

Die Durchschneidung des Sympathicus sowie diejenige des Plexus lumbosacralis geschah nach einer vor kurzem beschriebenen Methode[1]) von der Rückenseite des Frosches aus.

Wir warteten 1 bis 3 Monate, eine Zeit, die genügt, um die in Betracht kommenden Nervenfasern zur Degeneration zu bringen[2]), um so mehr, als die Tiere nicht besonders kühl gehalten wurden. Die Eingriffe überstanden die Tiere gut; sie wurden im Keller bei fließendem Leitungswasser aufbewahrt.

Vor dem Versuch wurden die Tiere meist curarisiert. In unserem Institut benutzten wir Kalebassencurare. Von der 0,5proz. wässerigen Lösung genügt 0,1 ccm, um Frösche mittlerer Größe (50 g) innerhalb einer Viertelstunde zu lähmen. In anderen Fällen curarisierten wir die Frösche nicht, sondern bohrten vor dem Versuch Hirn und Rückenmark aus. Wir banden in die freigelegte Aorta abdominalis eine Kanüle ein, die wir bis in eine Oberschenkelarterie vorschoben. Die Vena abdominalis und die Venae femorales und ischiadicae schnitten wir an, so daß die Durchströmungsflüssigkeit frei abfließen konnte. Als Durchströmungsmethode wenden wir schon seit längerer Zeit die von *Müller*[3]) angegebene an. Sie mißt die *einfließende* Flüssigkeitsmenge in der Zeiteinheit. Wir warten vor Beginn eines jeden Adrenalinversuchs einige Zeit, bis sich die Gefäße auf die veränderten Bedingungen eingestellt haben.

Als Durchströmungsflüssigkeit gebrauchten wir *Ringer*sche Lösung. In einigen Fällen fügten wir ein Phosphatpuffergemisch hinzu; bei einigen anderen Versuchen leiteten wir vor Beginn des Versuchs Sauerstoff durch die Lösung. Der Behälter, der die Durchströmungsflüssigkeit enthielt, war ungefähr 30 cm über dem Frosche aufgehängt.

Es wurde das Adrenalin von Meister, Lucius und Brüning, Höchst a. M. (D. A. B. 5), verwendet. Wir injizierten es in den Schlauch kurz vor der Kanüle. Die Injektionsgeschwindigkeit betrug 0,1 ccm in 2 Sekunden. Wir überzeugten uns davon, daß gleiche Mengen *Ringer*scher Flüssigkeit, mit der gleichen Geschwindigkeit eingespritzt, keinen Einfluß auf die Gefäßweite hat.

b) Zur Erreichung einer Gefäßerweiterung durch Adrenalin.

Bauer und *Fröhlich* hatten angegeben, daß ein Gefäßpräparat vom Frosche nach länger dauernder Durchströmung mit Adrenalin-Ringerlösung auf eine erneute größere Adrenalingabe mit einer Dilatation antwortet. Offenbar wird der Gefäßmuskel durch die dauernde Zufuhr von Adrenalin

[1]) *E. Schilf*, Pflügers Arch. **203**, 682, 1924.
[2]) *M. Eugling*, ebendaselbst **121**, 275, 1908.
[3]) *Erich Müller*, ebendaselbst **205**, 233, 1924.

so verändert, daß eine plötzliche Änderung dieser Adrenalinzufuhr im Sinne einer Vergrößerung eine Gefäßerweiterung auslöst. Es kam also nur darauf an, die Gefäßmuskulatur bzw. deren Nervenendigungen mit Adrenalin stark anzureichern, um durch eine zweite Adrenalininjektion in den Zuführungsschlauch hinein die Umkehrwirkung hervorzurufen.

Es lag nahe auszuprobieren, ob nicht auch eine einmalige größere Zufuhr von Adrenalin in das mit Ringer durchströmte Gefäßgebiet den Mechanismus der Vasomotoren so verändert, daß nach Ablauf der Kontraktion eine zweite Adrenalininjektion eine Erweiterung verursacht. Wir haben eine große Anzahl von Versuchen über diesen Gegenstand gemacht, ohne dieselben abgeschlossen zu haben. Für die vorliegende Veröffentlichung genügt es mitzuteilen, daß, wenn die Adrenalinwirkung von 0,1 ccm der Stammlösung 1 : 1000 abgewartet wird, eine zweite Adrenalindosis beliebiger Konzentration, kurz nachdem die erste Adrenalinwirkung abgeklungen ist oder doch die Vasokonstriktion nachläßt, eine Dilatation verursacht. Diese Erweiterung geht dann wieder in Verengung über; Adrenalin nun von neuem injiziert, macht regelmäßig eine Erweiterung. Wir geben ein Beispiel:

Versuch 35. 2. September 1924.

Durchströmung der linken hinteren Extremität. Froschgewicht 64 g.
Adrenalindosis 0,1 ccm (1 : 1000).

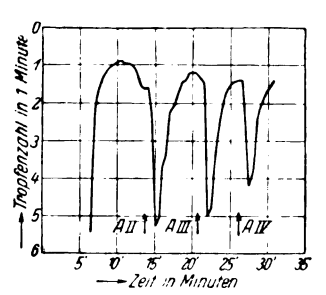
4 4 4 4 4 3 4 4 4 4 4 4 3 4 4 3 4 4 3 4 4 4
3 4 3 4 4 3 4 3 4 4 3 4 3 3 4 3 3 4 3 4 3 3
4 3 4 3 3 4 3 4 3 3 4 3 3 4 3 3 4 3 4 3 3 4
3 3 4 3 3 4 3 4 3 3 4 3 3 4 3 4 3 3 4 3 3 4
3 4 3 4 3 4 3 3 4 3 3 4 3 3 3 4.

A_{I} 6 3 3 3 4 4 5 5 5 6 5 6 7 6 7 7 8 9 9 9 12 14
$\overline{16}$ 21 24 30 34 40 45 52 56 60 64 67 65 64 59 50 44 37 36.

A_{II} 73 38 22 15 12 11 11 11 11 11 12 12 13 13 14 16 16 18 20 22 23 27
$\overline{29}$ 30 34 37 39 43 45 48 50 49.

A_{III} 90 45 21 14 12 11 10 11 11 13 14 15 16 18 19 22 24 26 29 32 34 37
$\overline{39}$ 41 44.

A_{IV} 88 39 20 16 13 14 15 14 16 17 19 20 23 25 27 29 31 33 35 37 39
$\overline{41}$ 43.



Anmerkung zur Tabelle und zur Abb. 1.

Die Zahlen bedeuten die Anzahl der Sekunden, in denen die Tropfen aufeinander folgen. Bei A die Adrenalininjektion. Der erste Tropfen nach der Adrenalininjektion tritt regelmäßig später auf (wir haben die Zahl unterstrichen), weil die Adrenalinmenge kurz vor der Kanule eingespritzt wird. Sie wird also nicht vom Tropfenzähler registriert.

In der Kurve bedeuten die Zahlen auf der Abzisse die Zeit in Minuten, auf der Ordinate die Anzahl der Tropfen in der Minute. A bedeutet die Adrenalininjektion. Der Beginn des Versuches sowie A_{I} ist in die Kurve nicht eingetragen worden, da der Fußpunkt sehr tief liegt (bei 18 in der Ordinate).

Die Erweiterung tritt bei den verschiedenen Versuchen nicht immer in gleicher Stärke auf. Sie schwankt zwischen 30 und mehreren 100 Proz. Wir haben bis jetzt hierfür keine Gesetzmäßigkeit finden können. Die Ursache dieser Umkehr der Adrenalinwirkung wollen wir hier nicht erörtern, da wir, wie schon gesagt, die Versuche darüber noch nicht abgeschlossen

haben. Daß sie nicht durch die Einspritzung von Flüssigkeit an sich bedingt wird, zeigt die nach Bariumchlorid stets auftretende Gefäßverengerung. Außerdem besteht auch die schon von *Bauer* und *Fröhlich* gefundene Tatsache, daß ein Gefäßpräparat, mit Adrenalin in beschriebener Weise vorbehandelt, auf den Sympathicusreiz mit einer Vasodilatation antwortet. *Dies können wir durchaus bestätigen, wenn wir die Blutgefäße nach der Methode der einmaligen größeren Adrenalinzufuhr vorbehandeln.* Offenbar wird durch die einmalige große Adrenalingabe bzw. länger dauernde Durchströmung mit Adrenalin-Ringer am Gefäß-Nerv-Muskelpräparat ein Zustand geschaffen, wie ihn auch Ergotoxin[1]) hervorruft; wir wissen, daß nach Injektion dieses Giftes Adrenalin oder eine Sympathicusreizung gefäßerweiternd wirkt.

Wir sind der Meinung, daß die von uns angegebene Modifikation der Methode von *Bauer* und *Fröhlich* zur Erlangung einer Gefäßerweiterung durch Adrenalin geeignet ist, unabhängig von den theoretischen Vorstellungen über diese Umkehrwirkung, zur Lösung des Problems über die Beziehung zwischen den Verlaufseigentümlichkeiten einer Adrenalinwirkung zum Sympathicus beizutragen.

C. Versuchsergebnisse.

a) Versuche von Pearce.

Pearce[2]) hatte in einer längeren Arbeit unter anderem die auffallende Beobachtung gemacht, daß bei Fröschen „einige Tage nach der Durchschneidung der Nerven Adrenalin in schwachen und mittleren Dosen eine Gefäßerweiterung bewirkt, die hinterher in Verengerung übergehen kann. Diese Umkehr gelingt am sichersten nach vorheriger Curarisierung“. *Pearce* hatte allerdings darauf hingewiesen, daß seine Beobachtung im Gegensatz zu den Befunden früherer Autoren steht. Auch machte er einige Einschränkungen. Die Erweiterung trat frühestens am dritten Tage nach der Durchschneidung auf, und auch dann nur mit Sicherheit, wenn vorher Curare injiziert wurde; nur bei kleinen oder mittleren Adrenalindosen erweiterten sich die Gefäße. Injektion von 0,3 ccm einer unverdünnten Stammlösung bewirkte eine Kontraktion der Gefäße. Selbst 23 und 29 Tage nach der Durchschneidung der vorderen und hinteren Wurzeln sowie des Rückenmarks — die hinteren Extremitäten waren völlig gelähmt — konnte *Pearce* nach Injektion von 1 ccm 1 : 250000 eine Gefäßerweiterung beobachten.

Wir haben die Versuche von *Pearce* wiederholt und auch bei vorheriger Injektion von Curare *keine* Erweiterung nach Adrenalin beobachten können. Eine Umkehr der Adrenalinwirkung hat in *keinem* der Versuche stattgefunden. In einem Falle konnten wir überhaupt keine Adrenalinwirkung feststellen. Wir hatten aber in diesem Falle eine besonders große Curaremenge injiziert, weil die Meinung geäußert werden könnte, daß die Umkehrwirkung mit der vorhergehenden

[1]) *H. H. Dale*, Journ. of Physiol. **34**, 163, 1906.
[2]) *R. G. Pearce*, Zeitschr. f. Biol. **62**, 243, 1913

Curareinjektion zusammenhängt. Allerdings hatte *Pearce* noch gefunden, daß „der Nachweis der Umkehr in einzelnen Versuchen auch ohne Curare gelingt“. Wir werden also die Verschiedenheit der Befunde von *Pearce* und uns darauf beziehen, daß bei den Fröschen von *Pearce* der Verlauf des Nervendegenerationsprozesses ein anderer gewesen sein könnte als der bei unseren Tieren. Da die Frösche von *Pearce* im Eisschrank, die unseren bei Kellertemperatur (ungefähr 10° C) aufbewahrt wurden, so erscheint es nicht ausgeschlossen, daß hierin der Unterschied erklärt werden könnte.

Daß gerade in der Frage der Adrenalinumkehr nach Nervendurchschneidung bzw. Degeneration sich nicht übereinstimmende Resultate ergeben, hat *Shimidzu*[1]) ebenfalls gezeigt. Er konnte 30 bis 40 Stunden nach Entnervung eines Dünndarmabschnitts (Kaninchen) eine normale Adrenalinwirkung beobachten, während *Mitsuda*[2]) eine Umkehrwirkung feststellte. Allerdings hatte *Mitsuda* an Hunden gearbeitet und 30 Tage nach der Operation die Untersuchung vorgenommen.

Zusammenfassend haben wir festzustellen, daß eine *gefäßerweiternde Adrenalinwirkung bei beginnender Nervendegeneration nach einmaliger Adrenalininjektion nicht gefunden werden konnte.*

b) Umkehrwirkung des Adrenalins.

1. Bei beginnender Degeneration sympathischer Fasern.

Was nun die nach unserer Methode hervorgerufene Adrenalinumkehr (s. Methode S. 209) betrifft, so ist sie auch bei Fröschen, bei denen noch nicht eine vollständige Degeneration der durchschnittenen sympathischen Nerven angenommen werden kann, auch vorhanden. Wir benutzten Frösche, denen wir einige Tage vorher den Sympathicus oder den Plexus lumbosacralis durchschnitten hatten. Wir geben ein Beispiel aus unserem Versuchsprotokoll:

Versuch 64. 26. September 1924.

Durchströmung der rechten hinteren Extremität. Operation am 22. September 1924: Durchschneidung des Plexus lumbodorsalis rechts. Froschgewicht 42 g. Adrenalindosen 0,1 ccm (1 : 1000).

5 5 4 5 5 4 5 5 5 4 5 5 4 5 4 5 5 5 4 5 5 5
5 4 5 5 5 5 4 5 5 5 5 5 4 5 5 5.

A_I $\overline{10}$ 4 5 5 6 14 15 14 14 15 17 18 18 21 21 23 25 27 30 34 34 38
39 41 49 51 55 58 59 63 66 68 67 67 66 64 61 60 61 59 57 48 48 48
47 48 47 45 45 44.

A_{II} $\overline{90}$ 22 16 13 13 13 13 13 13 13 13 14 14 14 14 15 15 15 17 18 19 21
22 23 26 27 29 29 31 32 33 37 40 41 41 43 45 47 48 50 49 50 50 50
48 47 48 47.

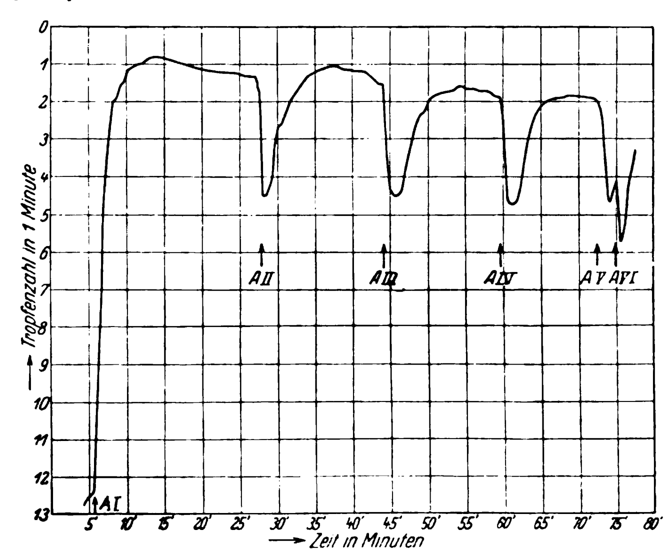
[1]) a. a. O., S. 207.
[2]) *T. Mitsuda*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **39**, 320, 1924.

A_{III} 92 23 17 14 14 14 13 14 13 13 13 14 13 13 13 14 14 14 14 15 15 15
$\overline{17}$ 17 17 18 19 20 21 21 23 24 25 27 27 27 29 30 31 31 32 32 32 33
34 34 34 35 36 35 36 37 37 36 35 36 36 36 36 36 36 35 35 35 35 35
33 33 32 31 32 31 31.

A_{IV} 61 31 20 15 13 13 13 12 13 12 13 12 13 12 13 12 13 14 14 14 14 15
$\overline{15}$ 16 17 18 19 20 20 22 22 24 24 26 26 27 27 29 29 30 30 31 31 31
31 31 31 31 31 32 33 33 32 32 31 32 32 32 32 31 32 31 30 30.

A_{V} 54 30 22 15 13 13 12 13 13 13 13 13 14 14.

A_{VI} $\overline{28}$ 15 14 11 11 10 9 10 10 11 11 11 12 13 14 14 14 15 15 16 16
$\overline{17}$ 18.



Anmerkung zur Tabelle und zur Abb. 2. Siehe Abb. 1. Die Kurve gibt auch den Verlauf der ersten Adrenalininjektion wieder.

Zusammenfassung: Bei beginnender Degeneration sympathischer Fasern bzw. der Nerven des Plexus lumbodorsalis ist immer die nach unserer Methode hervorgerufene Adrenalinumkehr zu erhalten.

2. Nach vollständiger Degeneration sympathischer Nervenfasern.

Wir arbeiteten an Tieren, denen wir 6 bis 10 Wochen vorher den Sympathicus oder den Plexus lumbosacralis durchschnitten hatten. Wir geben ein Beispiel aus dem Versuchsprotokoll:

Versuch 55. 18. September 1924.

Durchströmung der rechten hinteren Extremität. Operation am 1. August 1924: Sympathicusdurchschneidung rechts. Froschgewicht 46 g. Adrenalindosen 0,1 ccm (1 : 1000).

4 5 4 4 5 4 4 4 4 4 4 4 4 3 4 4 4 3 4 3.

A_{I} 7 4 3 4 6 8 9 10 13 23 57 82 68 61 55 53 52 52 49 45 45 43
42 43 40 36 36.

A_{II} 68 22 18 18 17 18 19 19 19 19.
A_{III} 38 18 15 13 13 14 13 14 17 18 18 19 19 20 20.
A_{IV} 39 17 14 13 12 13 14 19 20 22 24 25 25 26 24 23 22 22 22 21 21 21
20 20 19 20 20 20 20 20.
A_{V} 41 18 16 14 14 15 20 26 30 34.

Aus dem Versuchsprotokoll geht hervor, *daß die Umkehrwirkung des Adrenalins auch zustande kommt, wenn die Degeneration der sympathischen Nerven abgewartet wird.*

D. Besprechung der Ergebnisse.

Aus den Versuchsergebnissen geht unserer Meinung nach mit Sicherheit hervor, daß die Gefäßerweiterung durch Adrenalin auch nach degenerativer Durchschneidung der postganglionären Nervenendigungen eintritt. Wenn wir die Beobachtung von *Trendelenburg* (s. S. 207) mit einbeziehen, ist der Schluß erlaubt, daß der Wirkungsmechanismus des Adrenalins auch in seinen speziellen Eigentümlichkeiten und Abarten unabhängig von der Tätigkeit der letzten histologisch darstellbaren Nervenendigungen abläuft.

Wenn *Meltzer* und *Auer*[1]) gefunden haben, daß die Pupille nach Entfernung des obersten Halsganglions auf kleine Adrenalingaben, die in normalem Zustande unwirksam sind, mit Erweiterung antwortet, so braucht noch nicht an eine *direkte* Abhängigkeit der Stärke der Adrenalinwirkung von dem Erhaltensein eines *sympathischen Tonus* gedacht zu werden. Man muß, worauf *Straub*[2]) hingewiesen hat, berücksichtigen, daß nach der Ganglionentfernung die Gefäße weit werden. wodurch Änderungen in der Geschwindigkeit der Resorption des Adrenalins von der Conjunktiva aus bedingt sein können. Auch scheint es uns, daß das in die Vene gespritzte Adrenalin deshalb auf der ganglionlosen Seite die Pupille erweitern könne, weil die Strömungsgeschwindigkeit des Blutes wegen der weit gewordenen Gefäße geringer sein wird. Hierdurch findet das Adrenalin geeignetere Bedingungen, von den Kapillaren in das Gewebe der Iris zu gelangen. Dieser Vorgang wird noch dadurch begünstigt, daß die Gefäße auf der operierten Seite auf Adrenalin sich später und nicht so stark wie auf der gesunden Seite kontrahieren. Allerdings bleibt zu bedenken, daß die Irisempfindlichkeit gegen Adrenalin erst nach *vollständiger Ganglionentfernung* auftritt und nicht nach Sympathicusdurchschneidung. Solange aber noch nicht die Frage untersucht ist, ob die Art und Größe der Gefäßerweiterung nach Durchschneidung präganglionärer Fasern — die

[1]) *S. J. Meltzer* und *Cl. Meltzer-Auer*, Amer. Journ. of Physiol. **11** 28. 37. 40. 1904.
[2]) *H. Straub*, Pflügers Arch. **134**. 15, 1910.

.übliche Halssympathicusdurchschneidung ist eine solche — die gleiche ist als diejenige nach Ganglionherausnahme oder Durchschneidung postganglionärer Fasern, kann nicht gesagt werden, daß der Wirkungsgrad des Adrenalins von der Unversehrtheit der sympathischen Ganglienzellen abhängt.

Wenn es überhaupt möglich ist, sich eine Vorstellung von der Wirkungsweise des Adrenalins auf das Gewebe zu machen, so möchten wir uns noch am ehesten der Theorie von *Langley*[1]) anschließen. Dieser Autor vertritt die Ansicht, „daß die Giftwirkung" — gemeint ist die verschiedene Wirkung von Giften auf die verschiedenen Zellen — „auf Zellverschiedenheiten zurückzuführen ist, die entwicklungsgeschichtlichen Ursprungs und unabhängig von der Natur des Nerven sind". Hieraus ist abzuleiten, daß *Adrenalin nicht auf die Zelle wirke, weil sie sympathisch innerviert wird.*

Die entwicklungsgeschichtliche Seite dieser Theorie scheint nicht alles erklären zu können. Sie erklärt z. B. nicht, warum die Schweißdrüsen der Pferde[2]) auf Adrenalin reagieren, während weder der Mensch noch die Katze[3]) nach Adrenalin schwitzen, obwohl bei ihnen eine Sympathicusreizung zur Schweißsekretion führt. Auf Grund dieser Tatsachen würde, was die Schweißdrüsen anbetrifft, zwischen Mensch und Katze kein entwicklungsgeschichtlicher Unterschied bestehen; ein solcher müsse aber zwischen Katze und Pferd angenommen werden. Dies erscheint unwahrscheinlich. Allerdings ist es auffällig, wie ungleich in der Reihe der Säugetiere die Schweißdrüsen mit Bezug auf Anzahl und Verteilung zur Entwicklung gekommen sind.

Dagegen stimmen unsere Versuche mit der Theorie überein, daß die gefäßverengernde und erweiternde Adrenalinwirkung unabhängig von der Funktion der histologisch darstellbaren Nervenendigungen eintritt.

E. Zusammenfassung.

1. Es kann nicht gefunden werden, daß das Blutgefäßpräparat eines Frosches auf Adrenalin eine Vasodilatation zeigt, wenn einige Tage vor dem Versuch dem Tiere die in Betracht kommenden Nerven durchschnitten werden.

2. Bei Vorbehandlung eines Gefäßpräparates mit einer größeren Adrenalinmenge, tritt auf eine erneute Zufuhr *dieses* Giftes eine Gefäßerweiterung ein. Diese Umkehrung der Adrenalinwirkung ist auch dann zu beobachten, wenn die in Betracht kommenden sympathischen postganglionären Nervenfasern 3 bis 4 Tage oder 1 bis 3 Monate vorher durchschnitten werden.

---

[1]) *J. N. Langley*, S. 37.

[2]) Siehe darüber näheres bei *Feldberg*, Inaug.-Dissert. Berlin 1924.

[3]) *E. Schilf*, Klin. Wochenschr. 1923, S. 506.

Zu den Beziehungen zwischen Elektrolyt, Nerv und Muskel.

Von

F. Kraus und S. G. Zondek.

(Aus der II. medizinischen Klinik der Charité.)

(Eingegangen am 29. Januar 1925.)

Mit 7 Abbildungen im Text.

I. Experimenteller Teil.

Wir machten Versuche am glatten und am quergestreiften Muskel. Für den glatten Muskel bedienten wir uns als Objekt des Blutegels, und zwar deshalb, weil bei ihm sich verhältnismäßig einfach das Nervensystem entfernen läßt und wir somit das Verhalten des nervenhaltigen mit dem des nervenlosen vergleichen können. Das Nervensystem liegt bei gewissen Anneliden zeitlebens in der Haut, bei anderen, z. B. dem Blutegel, tritt es in die Leibeshöhle. Es besteht im Groben aus einem im Kopflappen über dem Anfangsdarm gelegenen paarigen Cerebralganglion, welches durch zwei Schlundkommissuren mit einem Unterschlundganglion in Verbindung gesetzt ist. Von diesem zieht nach hinten ein paariger Bauchstrang, gebildet von in den einzelnen Segmenten gelegenen Bauchganglien, welche durch Längs- und Querkommissuren miteinander verbunden sind. Schneidet man aus dem Blutegel einen Querstreifen heraus und öffnet diesen der Länge nach, so zeigt sich an der Innenseite eine weißgraue Haut, welche die beschriebenen nervösen Gebilde enthält und sich von der darüber gelegenen muskulären Schicht abziehen läßt. Auf diese Weise erhält man den entnervten, rein muskulären Anteil des Blutegelschlauches. Unsere Versuche stellten wir am nervenhaltigen und entnervten Präparat an. Die Blutegelstreifen wurden in Ringerlösung gebracht und zur graphischen Registrierung an zwei mit einem Schreibhebel verbundenen Haken befestigt. Das *nervenhaltige* Präparat führt ständig peristaltikartige Bewegungen aus. Variiert man die Elektrolytzusammensetzung der Ringerlösung, so treten folgende Änderungen auf. Vermehrung des *Kalium*gehaltes führt zu einer Verstärkung der Bewegungen und zu einem Absteigen der Abszisse. Das gleiche wird auch durch elektrische Reizung (Induktionsschlag) erzielt. Charakteristisch ist

jedoch, daß die Änderung der Bewegung sich im Rahmen der natürlichen physiologischen Bewegung hält (Abb. 1). Selbst bei anfangs starker Zunahme der Kontraktionen nähert sich schon nach kurzer Zeit das Verhalten des Muskels dem ursprünglichen Zustand. Ganz anders verhält sich das *entnervte* Präparat. Es führt keinerlei spontane Bewegungen aus. *Kalium*zusatz bewirkt einen mehr oder weniger stark

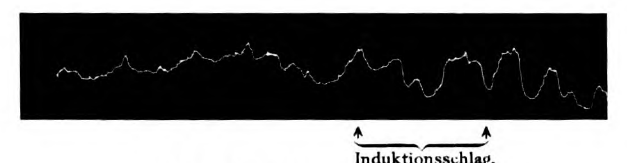


Abb. 1. Nervenhaltiges Blutegelpräparat.

zunehmenden Kontraktionszustand, der viel stärkere Grade erreicht, als es beim nervenhaltigen Präparat der Fall ist, und der vor allem auch festgehalten wird und schließlich in eine maximale Dauerkontraktur übergehen kann. Verstärken kann man den Grad der Kontraktionszunahme noch dadurch, daß man elektrische Reize (Induktionsschläge) einschaltet. Jeder Reiz ist mit einer Bewegung vom Charakter einer tonischen Einzelzuckung verbunden. Außerdem steigt aber die Kurve selbst plateauartig an als Ausdruck einer durch jede Einzelreizung bewirkten Steigerung des tonischen Kontraktionszustandes. Die durch den Induktionsschlag hervorgerufene Einzelzuckung ist beim mit Kalium vorbehandelten Präparat viel größer als beim gewöhnlichen (Abb. 2 und 3). Das unmittelbare Ergebnis der Untersuchungen ist

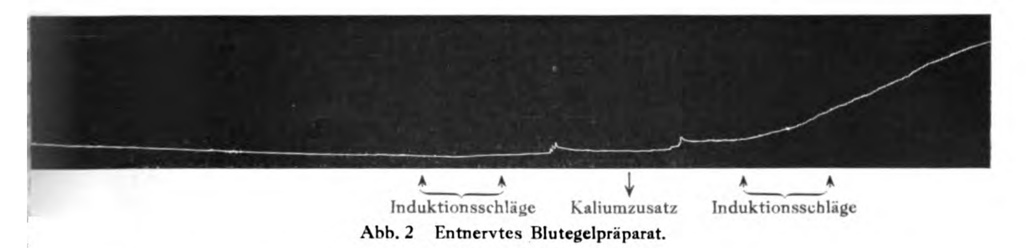


Abb. 2 Entnervtes Blutegelpräparat.

folgendes. Das Nervensystem regularisiert die Bewegungen des Muskels und macht sie periodisch; es verhindert, daß die Reaktionen des Muskels sich ins Extreme steigern. Aus den Versuchen an entnervten Präparaten können wir außerdem noch folgendes entnehmen. Zwischen der Einzelzuckung und dem Grade des Kontraktionszustandes bestehen enge Beziehungen. Jede Einzelzuckung kann auf die Stärke des tonischen Verkürzungsgrades einwirken, und umgekehrt hat auch letzterer Einfluß auf die Stärke der Einzelzuckung. Wir verzeichnen

*

hiermit beim glatten Muskel einen Vorgang, der noch deutlicher, aber im Prinzip in gleicher Weise beim quergestreiften Muskel in Erscheinung tritt. Dies ist auch die Brücke, die vom glatten zum quergestreiften Muskel führt und die uns zeigt, daß zwischen beiden keine prinzipiellen Unterschiede zu bestehen brauchen.

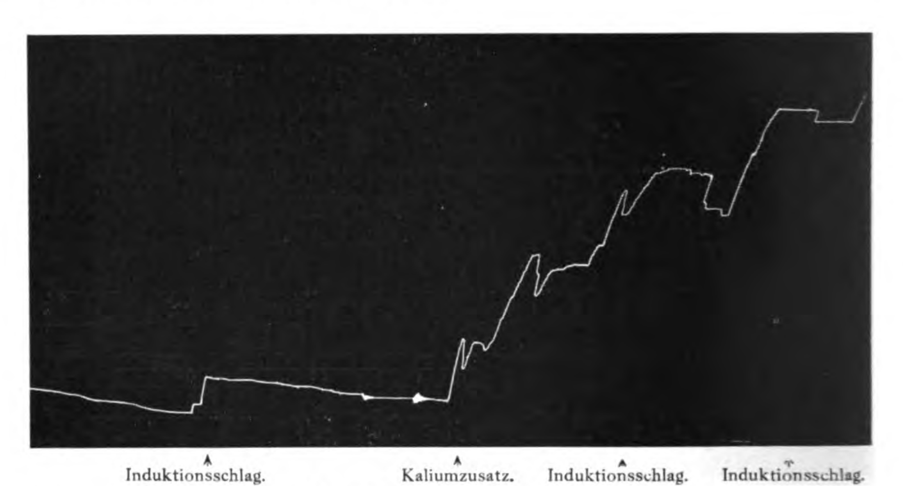


Abb. 3. Entnervtes Blutegelpräparat.

Ähnlich wie der Blutegel verhält sich das Herz. Hebt man den Herzschlag durch Vergiftung mit Chloralhydrat auf, dann gleicht das Herz in gewisser Beziehung dem nervenlosen Blutegel. Änderung der Elektrolytzusammensetzung, und zwar Vermehrung des Calciumgehalts hat — wie Abb. 4 zeigt — eine rein tonische Verkürzung des Herzmuskels zur Folge. Die Chloralhydratwirkung bezieht sich wahrscheinlich nicht nur auf den nervösen Teil des Herzens, sondern wahr-

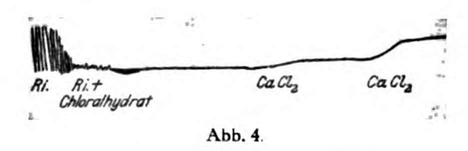


Abb. 4.

scheinlich auch noch auf die eigentliche fibrilläre Substanz. Übrig bleibt dann nur die Fähigkeit zur tonischen anhaltenden Verkürzung, also mehr die Reaktionsweise eines glatten Muskels.

Versuche am quergestreiften Muskel.

Sie wurden am Sartorius und Gastrocnemius des Frosches ausgeführt. Sie zeigen beide das gleiche. Aus der Versuchsreihe sei je einer auch kurvenmäßig wiedergegeben. Es lag uns in erster Linie

daran, zu prüfen, in welchen Beziehungen die Einzelzuckung zu der tonischen Zustandsänderung des Muskels steht. Was die Tonusänderung des Muskels betrifft, so wissen wir, daß für sie maßgebend ist die Einwirkung vegetativer Nervenfasern, bestimmter Gifte und verschiedener Elektrolyte. Von letzteren wirkt Kalium tonussteigernd, Calcium tonusvermindernd. (Beim Herzen ist der Einfluß der Elektrolyte ein entgegengesetzter: Calcium steigert den Tonus, Kalium vermindert ihn.)

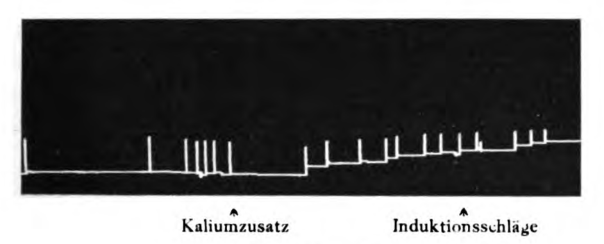


Abb. 5. Froschsartorius.

Die Reizung des quergestreiften Muskels, gleichgültig, ob es sich um Einzelzuckung oder um tetanische Reizung handelt, läßt den Muskel rasch immer wieder zu seiner ursprünglichen Erschlaffungslänge zurückkehren. Führt man aber dem Muskel von außen Kalium hinzu, so kommt eine langsam zunehmende Verkürzung zustande, welche bestehen bleibt. Reizt man jetzt den Muskel (direkt oder indirekt) z. B. durch einen Induktionsschlag, so ändert sich mit der Zuckung gleichzeitig auch der tonische Verkürzungsgrad.

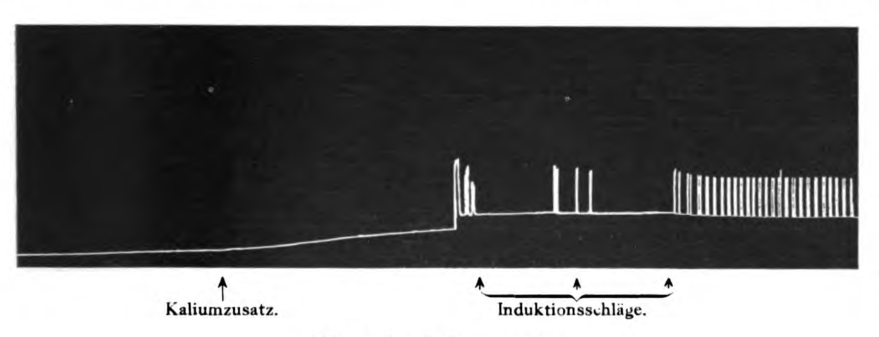


Abb. 6 Frosch-Gastrocnemius.

Er kann sich verstärken, gelegentlich aber auch verringern (Abb. 5 und 6). Ähnliches haben für das Acetylcholin auch schon *Riesser* und *Neuschlosz* gefunden.

Es handelt sich um gleichartige Veränderungen, wie wir sie bei den Versuchen am Blutegel kennengelernt haben. Tonischer Verkürzungs-

grad und Einzelzuckung stehen zweifellos in gegenseitiger Abhängigkeit. Dies geht auch aus anderen von uns ausgeführten Versuchen hervor. welche gleichzeitig gestatten, auch gewisse Vorgänge bei der Ermüdung und Erholung des Muskels näher zu beleuchten. Reizt man einen quergestreiften Muskel mit Induktionsschlägen so lange, bis relative Ermüdung eintritt und ändert dann die Elektrolytzusammensetzung der Nährlösung, so zeigt sich folgendes. Vermehrung des Kaliumgehalts bewirkt, daß die Ermüdung durchbrochen wird, d. h. daß die bei der fortgesetzten Reizung mit Induktionsschlägen auftretenden Einzelzuckungen wieder stärker werden; Calciumvermehrung dagegen hat zur Folge, daß aus der relativen eine absolute Ermüdung resultiert (Abb. 7). Da die Wirkung der Elektrolyte sofort eintritt, die Ermüdungs-

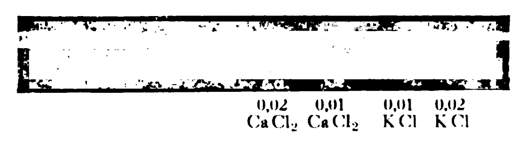


Abb. 7.

erscheinungen jedoch die Folge einer Reizungsphase von mehreren Minuten sind, so ist nicht anzunehmen, daß es sich bei der Elektrolytwirkung um eine Beeinflussung der der Ermüdung bzw. Erholung zugrunde liegenden oxydativ-chemischen Restitutionsprozesse handelt. Die Wirkung der Elektrolyte ist auch hier in erster Linie auf den Tonuszustand des Muskels zu beziehen, und dieser hat — wie ja auch aus den zuvor angeführten Versuchen hervorgeht — Einfluß auf die Zuckungsgröße. Wir verweisen auch auf die Versuche am Blutegel, welche gezeigt haben, daß nach Vorbehandlung mit Kalium und dadurch bedingter tonischer Verkürzung Einzelreize zu stärkeren Kontraktionen als sonst Veranlassung gegeben haben.

II. Theoretischer Teil.

Unsere Untersuchungen haben Unterschiede aufgewiesen in der Muskeltätigkeit je nach der Art und Weise, wie die Muskeln zur Tätigkeit angeregt werden. Sie tragen dazu bei, die Erscheinungen der Muskeltätigkeit in eine bestimmte Ordnung und in Zusammenhang zu bringen. Mittelbar werfen sie Licht auf die Fragen der Muskelübung und des Muskeltonus.

Gewöhnlich wird davon ausgegangen, daß die Spannung nur der verhinderten Verkürzung entspricht: Die Last müsse dem „Sperrapparat" aufgeladen werden, bevor eine Bewegung ausgeführt werden könne. Ohne äußeren, seine Zusammenziehung hindernden Widerstand vermöge ein Muskel nicht in Spannung zu verharren, die Spannung

sei stets nur dem Widerstand gleich. Erfahrungsgemäß besteht aber der wesentliche Unterschied zwischen quergestreiften und glatten Muskeln darin, daß die ersteren normalerweise in demselben Augenblick, wo sie oder ihre Nerven gereizt werden, sich kontrahieren und in Kontraktion verharren, solange die Reizung erhalten wird. Hört die Reizung auf, erschlafft der quergestreifte Muskel sofort wieder. Die Bewegungen der animalischen Muskeln scheinen also in unmittelbarer Abhängigkeit zu stehen von den sie treffenden Reizen, indem sich bloß die Bündel verkürzen, deren Nervenfasern von jenen getroffen werden, um so lange verkürzt (und gespannt) zu bleiben, als sie von ihnen getroffen sind. In allen diesen Beziehungen verhalten sich aber die glatten Muskeln anders, teilweise umgekehrt. Sie verkürzen sich erst eine Zeit nach der Reizung, der Reiz kann sogar schon vorüber sein, ehe die Zusammenziehung sichtbar wird. Die erregte Tätigkeit dauert dann aber unter Umständen auch noch lange fort, wenn die Reizung schon aufgehört hat, wobei nicht nur die anfangs gereizten Muskelbündel fortfahren, sich mehr und mehr zusammenzuziehen, sondern auch andere Bündel in Kontraktion geraten können: Die glatten Muskeln stehen eben schon in der Norm nicht in so unmittelbarer Abhängigkeit von der ihre Nerven treffenden Reizung, wie die quergestreiften, ihre Zusammenziehung ist weder der Dauer, noch der Zahl der von der Erregung ergriffenen Bündel nach an den veranlassenden Reiz gebunden. Durch Versuchsanordnungen, wie die von uns verwendeten, kann man nun auch quergestreifte Muskeln zu einer wenigstens teilweise analogen Reaktionsweise zwingen, und auch unter „spontanen" pathologischen Bedingungen beobachten wir ähnliches.

Zum Verständnis können wir auf Grund unserer heutigen Kenntnisse über den Arbeitsstoffwechsel des Muskels und unserer eigenen Versuche folgendes sagen. Unmittelbar hängt der eigentliche Arbeitsvorgang in seinen oben angeführten äußeren Erscheinungen ab von der latenten Energie des muskulären Systems der Kolloide und Elektrolyte, welche bei der die Muskeltätigkeit vermittelnden Zustandsänderung frei wird. Die aus den Oxydationsreaktionen des tätigen Muskels umgesetzte Energiemenge wird jeweils zum Teil zur Wiederherstellung des ursprünglichen Zustandes der Arbeitsfähigkeit verwendet, und zwar in Form einer Restitution der physiko-chemischen Struktur und der früheren Turgorkraft als eines metastabilen Systems. Der metastabile Zustand geht durch gewisse Anlässe in Labilität über, aus welchen das System nur durch einen Arbeitsaufwand zum metastabilen Gleichgewicht zurückgeführt werden kann. Zu den wesentlichsten Faktoren der Stabilisierung des letzteren und ihrer Schwankungen gehören die Elektrolyte.

Quelle der Muskelenergie sind somit die Vorgänge der Erholung, welche zugleich Vorbereitung sind. Der den chemischen begleitende physische Restitutionsprozeß ist eine katalytische (autokatalytische) Entwicklungsarbeit. Was man Hemmung (Verzögerung) und Beschleunigung (Förderung) dieses Restitutionsprozesses nennt, ist die Änderung nicht bloß in der Zeiteinheit, sondern im Charakter des Vorgangs nach dem Modell der Autokatalyse (träge, flinke Reaktion). Maßgebend für den Reaktionsablauf nach den beiden Modellen ist, verschieden nach verschiedenen Organen, das Vorwiegen des Katalysators in der Elektrolytkombination. Der Antagonismus zwischen K und Ca äußert sich auch autokatalytisch. Daß die Elektrolytkombination speziell auch den O_2-Verbrauch im Muskel (Herz) mit regelt, haben wir und *Arnoldi* an anderer Stelle gezeigt.

Der für das physische System charakteristische Zustand des Gleichgewichts (des stationären Geschehens), worin im Gebilde als Ganzem die arbeitsfähige Energie jeweils das Minimum geworden ist, kann selbst für denselben Stoff in verschiedener Gestalt eintreten. Man denke etwa an den Kochsalzkristall („atomare" Struktur) und an Kochsalzdampf („molekulare" Struktur). Der (ruhende) quergestreifte hat eine „natürliche" Länge. Der glatte erscheint in verschiedenen Längen. Die Ursache der Ausübung verschieden großer Kraft auch durch denselben Muskel zu verschiedenen Zeiten bzw. die Arbeitsbereitschaft liegt vielmehr als in Größenunterschieden der Kontraktion oder der dem Widerstand proportional angenommenen Spannungen in der physischen Struktur (der Elastizität) des Muskels. Viel Sauerstoffverbrauch, also lebhafter Stoffwechsel, ist allein nicht maßgebend für die Leistungsfähigkeit des Muskels (Beispiel des Asthenischen). Der physische Anteil der Restitution ist eine Wachstums-(Entwicklungs-) Arbeit, welche nicht bloß vom örtlichen Funktionsreiz, sondern auch vom allgemeinen Lebensgeschehen abhängt (Übung und Massenzunahme des Muskels, Inaktivitätsatrophie).

Seit *Boekes* Untersuchungen weiß man, daß eine akzessorische (parasympathische) Faser, in die Endplatte des motorischen Nerven im quergestreiften Muskel eindringend, ein kleines Endnetzchen bildet. Die Endplatte des motorischen Nerven bezeichnet eine bloße Phasenverschiedenheit in dem Sinne, daß sie Anlaß gibt zu einer Verlangsamung der Reaktionsgeschwindigkeit des Erregungsvorgangs (Synapse). Schon dadurch können allerdings gewisse, für das Zentralnervensystem charakteristische Eigenschaften hervorkommen. Den Charakter des Restitutionsvorgangs aber (nicht bloß seine Geschwindigkeit) ändert (im glatten und im quergestreiften Muskel) ein für sich Reize aufnehmendes System, welches mit dem vegetativen Nerven in Verbindung steht. Diese rezeptive Substanz gibt gewissen (tonischen)

Muskeln ein Verhalten, als ob in ihnen nervöse Zellelemente enthalten wären (Reizsummation, Bahnung, Hemmung, Tonusfang usw.). Wie sehr allerdings dieses System der Rationierung durch auswärtige Nervenapparate bedarf, beweisen die vorstehenden Versuche. Nur diese autonome rezeptive Substanz ist der Angriffsort der Muskelgifte und ihrer Antagonismen, der Elektrolyte usw. Durch Gifte und Elektrolyte kann man nie eine Einzelzuckung hervorrufen.

Daß im Ermüdungsvorgang viel mehr steckt als eine Erschöpfung des chemischen Restitutionsvorgangs, beweisen unsere Versuche ganz direkt (vgl. Abb. 7).

Über die Wirkung einiger Narkotica der Fettreihe auf die glatte Muskulatur des Blutegels.

Von

Georg Joachimoglu.

(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 30. Januar 1925.)

Mit 5 Abbildungen im Text.

Daß die Narkotica der Fettreihe neben einer lähmenden Wirkung auch erregende Eigenschaften besitzen, ist mir besonders deutlich geworden bei Untersuchungen, die ich in Gemeinschaft mit *A. Goldscheider*[1]) ausgeführt habe. Wir konnten nachweisen, daß eine Reihe von Chlorderivaten des Methans, Äthans und Äthylens beim Menschen eine spezifische Reizung der Temperaturnerven und der taktilen bzw. Schmerznerven hervorrufen. Das Ergebnis dieser Untersuchungen stimmt mit den Versuchen, die ich im folgenden schildern werde, überein.

In zwei früheren Untersuchungsreihen konnte ich die erregende Wirkung der drei Campherisomeren[2]) sowie auch einiger Phenole[3]) auf die glatte Muskulatur des Blutegels nachweisen. Daß dem Campher und den Phenolen erregende Wirkungen zukommen, stimmt mit den übrigen pharmakologischen Eigenschaften dieser Körper überein. Bei den Narkoticis der Fettreihe ist jedoch der Nachweis einer erregenden Wirkung nicht so leicht durchzuführen wie der der lähmenden Wirkung dieser Gifte. Es lag nun nahe, auf Grund dieser Erfahrungen bei den Campher- und Phenolversuchen auch hier die glatte Muskulatur des Blutegels zu benutzen. Speziell über die Wirkung einiger Narkotica der Fettreihe auf die glatte Muskulatur findet man in der Literatur einige Forschungsergebnisse[4]): *Engelmann* fand, daß Chloroform und Äther eine Reizung der kontraktilen Elemente der Hautdrüsen bei Fröschen hervorruft. Auch *Jastreboff* konnte eine Erregung glatter Muskeln durch dieselben Gifte beobachten. Er führte

---

[1]) *A. Goldscheider* und *G. Joachimoglu*, Pflügers Arch. **206**, 325, 1924.

[2]) Vgl. *G. Joachimoglu*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **88**, 365, 1920.

[3]) *G. Joachimoglu* und *P. Bose*, ebendaselbst **102**, 17, 1924.

[4]) Vgl. *Kochmann* in Heffters Handbuch der exper. Pharm. **1**, 200; *Winterstein*, Die Narkose, S. 16, 1919.

seine Versuche an der Vagina des Kaninchens aus. Weiter ist *Kuno* zu erwähnen, der gefunden hat, daß Methylalkohol und Äthylalkohol erregend auf den Kaninchendarm wirken.

Meine Versuchstechnik ist sehr einfach. Die Präparation des Blutegelpräparats nahm ich nach der von *Fühner*[1]) beschriebenen Methode vor. Der Muskel wurde in froschisotonischer Ringerlösung ($p_H = 7,2$) suspendiert. Hat man die Ganglien sorgfältig entfernt, so bekommt man auf der berußten Trommel eine fast gerade Linie, der Tonus läßt zunächst etwas nach. Die geprüften Verbindungen wurden in Ringerlösung gelöst. Die Gifte, über die ich zunächst berichten werde, nämlich die oben erwähnten Derivate des Methans, Äthans und Äthylens, sind schon wiederholt in unserem Institut Gegenstand von Untersuchungen gewesen[2]).

Tabelle I.

Dichlormethan, CH_2Cl_2, Mol.-Gew. 84,94, spez. Gew. 1,322.

Nr.	Konzentration der angewandten Lösung in 1000 ccm			Resultat
	ccm	g	Mol	
1	10	13,22	0,155 64	Tonussteigerung, die nach 25 Minuten etwa ihr Maximum erreicht und nach einer Stunde abgeklungen ist.
2	7,5	9,915	0,116 73	Tonussteigerung (gering) allmählich eintretend und abklingend.
3	5,0	6,61	0,077 82	Tonussteigerung; während einer Stunde starke, schnell aufeinanderfolgende Kontraktionen, dann 1/2 Stunde keine Kontraktion, dann eine geringe Tonuszunahme.
4	2,5	3,305	0,038 91	Geringe Tonusschwankungen, starke Kontraktionen, dazwischen mehrere sehr schwache. Die Kontraktionen erfolgten noch nach 2 1/2 Stunden unverändert.
5	1,5	1,983	0,023 346	Geringe Tonusabnahme; schwache Kontraktionen, eine starke am Ende der 1. Stunde.
6	1,0	1,322	0,015 564	Tonus kaum geändert, sehr starke Kontraktionen, die allmählich an Zahl abnehmen. Die letzte sehr starke Kontraktion erfolgt nach 70 Minuten.
7	0,5	0,661	0,007 782*)	Tonussenkung; einige schwache Kontraktionen.
8	0,25	0,3305	0,003 891	Tonussenkung; keine Kontraktion.
9	0,25	0,3305	0,003 89	$BaCl_2$ 1 : 100000 Ringer: ohne Tonusschwankung, keine Kontraktion. Auswaschen mit Ringerlösung, dann CH_2Cl_2 0,25 : 1000 + $BaCl_2$ (1 : 100000): nach einer Stunde ziemlich starke Kontraktion.

*) ——— in den Tabellen bedeutet wirksame Grenzkonzentration.

[1]) *H. Fühner*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **82**, 81, 1918; Nachweis von Giften auf pharmakologischem Wege in Abderhaldens Handb. d. biol. Arbeitsmethoden, Abt. 4, Teil 7, S. 463.

[2]) Vgl. *Heffter* und *Joachimoglu*, Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. u. öffentl. Sanitätswesen **48**, Suppl., 1914; *W. Plötz*, diese Zeitschr. **103**, 243, 1920. Auf S. 265 finden wir hier Angaben über die Wasserlöslichkeit dieser Körper. *G. Joachimoglu*, Berl. klin. Wochenschr. 1921, Nr. 7, S. 147; *W. Kiessling*, diese Zeitschr. **114**, 292, 1921; *Plagge*, ebendaselbst **118**, 29, 1921; *Joachimoglu*, ebendaselbst **120**, 203, 1922; **124**, 203, 1921.

Einen Teil der Versuche mit Dichlormethan (CH_2Cl_2) habe ich in *Tabelle I* zusammengestellt. Die Tabelle zeigt, daß durch Dichlormethan bis zu einer Verdünnung von 0,5 ccm auf 1000 Ringer (= 0,007 782 Mol) der Muskel zu Kontraktionen angeregt wird. Bei höheren Konzentrationen ist auch eine starke Zunahme des Tonus zu beobachten. Was den Angriffspunkt des Giftes anbelangt, so zeigt Versuch 9, daß durch Barium eine Verstärkung der Wirkung im Sinne eines potenzierten Synergismus vorhanden ist. Demnach liegt wahrscheinlich der Angriffspunkt des Dichlormethans im Muskel und nicht in den Nervenendapparaten. Die Versuche mit Chloroform finden sich in *Tabelle II*. Bei starken Konzentrationen (5 ccm auf 1000 Ringer)

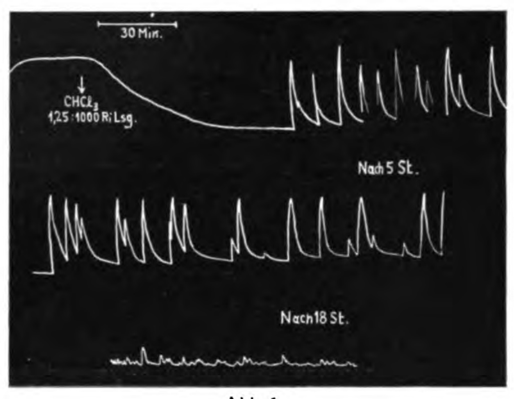


Abb. 1.

Tabelle II.

Chloroform, $CHCl_3$, Mol.-Gew. 119,39, spez. Gew. 1,489.

Nr.	Konzentration der angewandten Lösung in 1000 ccm			Resultat
	ccm	g	Mol	
1	5	7,445	0,062 358	Sofort Tonuszunahme, die nach etwa einer Stunde ein Maximum erreicht; nach 2 Stunden Tonus geringer als in der Norm.
2	2,5	3,722 5	0,031 179	Tonuszunahme gering; nach 2 Stunden Tonus nachgelassen, geringer als in der Norm.
3	1,5	2,233 5	0,018 709	Sehr starke Kontraktionen.
4	1,25	1,861 25	0,015 589 5	Starke Tonussenkung ohne Kontraktion. Nach $1^1/_2$ Stunden starke, rasch aufeinander folgende Kontraktionen, die nach 3 Stunden noch unverändert stark erfolgen, nach 18 Stunden schwache Kontraktionen.
	Bild 1			
6	1,0	1,489	0,012 471 6	Tonussenkung.
7	0,75	1,116 75	0,009 354 5	Mäßig starke Kontraktionen.
8	0,5	0,744 5	0,006 235 8	Häufige kleine Kontraktionen.
9	0,4	0,595 6	0,004 988 7	Nach 2 Stunden zwei schwache Kontraktionen; geringe Tonusabnahme.
10	0,3	0,446 7	0,003 741 5	Keine Kontraktion, Tonusabnahme.
11	0,3	0,446 7	0,003 741 5	Ringerlösung — $BaCl_2$ 1:100000, viermal mit Ringer ausgewaschen, dann $CHCl_3$ 3:10000. Gerade Linie, geringe Tonusabnahme. Dann $BaCl_2$ 1:100000 + $CHCl_3$ 3:10000. Nach 2 Stunden ganz geringe Kontraktionen.

kommt es zu einer Tonuszunahme; später wird der Tonus geringer als in der Norm. Bei geringer Konzentration (1,5 bis 2,5 ccm auf 1000 Ringer) treten Kontraktionen auf (vgl. auch Abb. 1). Noch bei einer Konzentration von 0,4 ccm in 1000 Ringer (= 0,0049887 Mol) ist eine Wirkung nachweisbar. Auch hier läßt sich mit Bariumchlorid die Wirkung verstärken (Versuch 11). Die Versuche mit Tetrachlor-

Tabelle III.

Tetrachlormethan, CCl_4, Mol.Gew. 153,84, spez. Gew. 1,5947.

Nr.	Konzentration der angewandten Lösung in 1000 ccm			Resultat
	ccm	g	Mol	
1	0,5 Bild 2	0,797 35	0,005 183	Tonussteigerung; Kontraktionen; nach $1^1/_2$ Stunden Tonusabnahme, keine Kontraktionen.
2	0,4	0,637 9	0,004 146	Zunächst seltenere, dann häufigere, aber geringere Kontraktionen, Tonussteigerung gering.
3	0,3 Bild 3	0,478 4	0,003 109 7	Starke Tonusschwankungen und Kontraktionen, nach 2 Stunden schwache Kontraktionen, ganz geringe Tonuserhöhung.
4	0,2	0,318 95	0,002 033	Keine Tonuserhöhung, geringe Kontraktionen.
5	0,15	0,239 2	0,001 504	4 schwache Kontraktionen, dann allmählich geringe Tonusabnahme.
6	0,1	0,159	0,001 036 5	Keine Wirkung.

methan finden sich in *Tabelle III*. Dieses Präparat ist, wie aus Abb. 2 und 3 hervorgeht, sehr stark wirksam. Noch bei einer molaren Kon-

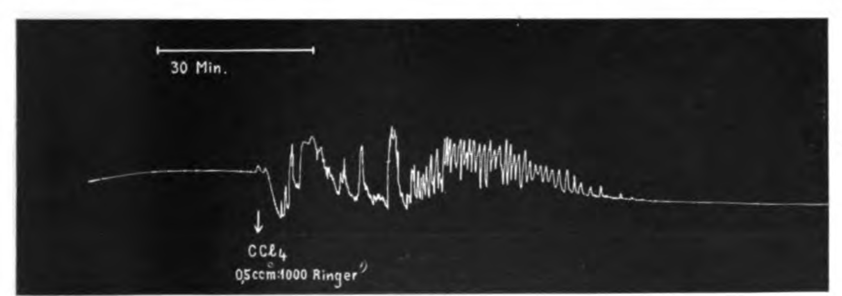


Abb. 2.

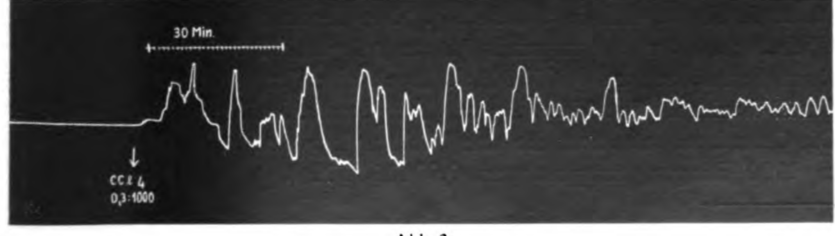
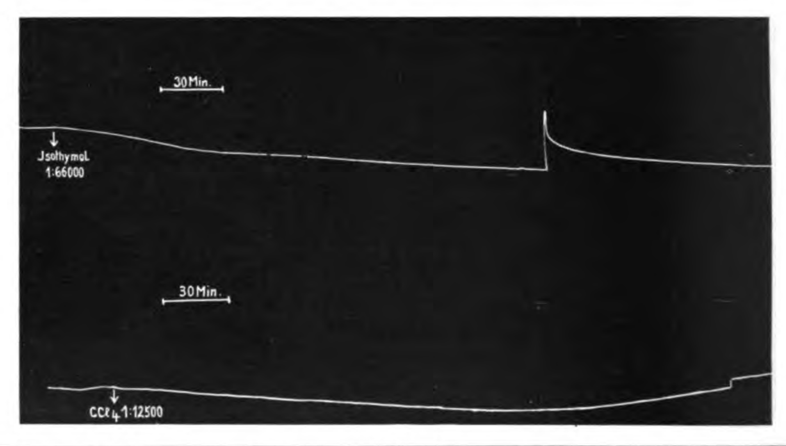


Abb. 3.

zentration von 0,001504 Mol ist eine deutliche Wirkung zu sehen, und wir finden auch den Synergismus mit Barium. Die Resultate stimmen mit den entsprechenden Versuchen mit Dichlormethan und Chloroform vollkommen überein, und ich will aus diesem Grunde von einer Wiedergabe absehen. Interessant ist, daß auch das früher untersuchte Isothymol[1]) die Wirkung des Tetrachlorkohlenstoffs verstärkt, wie Abb. 4 zeigt. Isothymol allein ruft bei einer Konzentration 1 : 66000 erst nach mehreren Stunden eine schwache Kontraktion hervor, Tetrachlorkohlenstoff wirkt bei einer Konzentration von 1 : 12500 Vol.



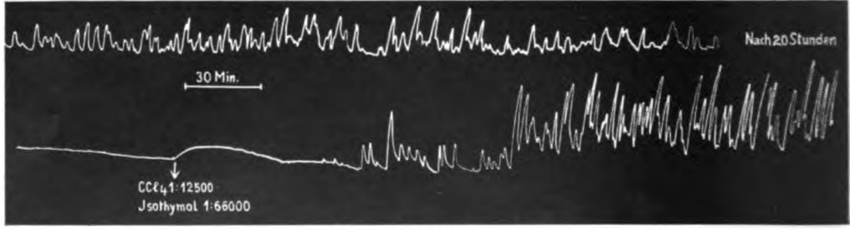


Abb. 4.

nicht, während beide Gifte, in den genannten Konzentrationen gleichzeitig appliziert, eine sehr starke Wirkung auslösen, die 20 Stunden nach der Vergiftung noch sehr deutlich ist. Die Versuche mit Äthylendichlorid finden sich in *Tabelle IV*. Die Grenzkonzentration, die eine Wirkung hervorruft, entspricht 0,2 ccm Äthylendichlorid in 1000 Ringerlösung, entsprechend **0,00253** Mol. Auch hier Verstärkung der Wirkung durch Barium. Die Versuche mit Äthylendichlorid enthält *Tabelle V*. Die Grenzkonzentration, die eine Wirkung hervorruft, liegt bei 0,35 ccm in 1000 Ringer, entsprechend **0,0041561 Mol.** *Tabelle VI* gibt die

---

[1]) Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **102**, 329, 1924.

Tabelle IV.

Äthylendichlorid, $\begin{matrix} CH_2Cl \\ | \\ CH_2Cl \end{matrix}$, Mol.-Gew. 98,95, spez. Gew. 1,2521.

Nr.	Konzentration der angewandten Lösung in 1000 ccm			Resultat
	ccm	g	Mol	
1	6,0	7,512 6	0,075 92	Tonuserhöhung, nach einer Stunde Tonussenkung; keine Kontraktionen.
2	3,0	3,756 3	0,037 96	Starke Tonussenkung, keine Kontraktionen.
3	2,0	2,504 2	0,025 3	Starke Tonussenkung, einige ganz schwache Kontraktionen.
4	1,0	1,252 1	0,012 65	Tonussenkung, einige ganz schwache Kontraktionen.
5	0,6	0,751 26	0,007 592	Geringe Tonussenkung, sehr häufige, sehr schwache Kontraktionen.
6	0,3	0,375 63	0,003 796	Nach 10 Minuten mehrere ziemlich starke Kontraktionen bei erhöhtem Tonus; dann Tonussenkung zur Normalen und vereinzelte sehr schwache Kontraktionen.
7	0,2	0,250 42	0,002 53	Mehrere schwache Kontraktionen, geringe Tonussenkung.
8	0,1	0,125 21	0,001 265	Geringe Tonussenkung ohne Kontraktion.

Tabelle V.

Äthylidenchlorid, $\begin{matrix} CH_3 \\ | \\ CHCl_2 \end{matrix}$, Mol.-Gew. 98,95, spez. Gew. 1,175.

Nr.	Konzentration der angewandten Lösung in 1000 ccm			Resultat
	ccm	g	Mol	
1	3,5	4,112 5	0,041 561	Beim Einbringen äußerst starke Kontraktionen, die allmählich noch ansteigen, nach 1 1/2 Stunden Erschlaffung.
2	2,0	2,35	0,023 75	Beim Einbringen mäßig starke Kontraktion, die ziemlich rasch nachläßt; es folgt eine starke Erschlaffung.
3	1,0	1,175	0,011 875	Nach 2 Stunden Beginn mäßig starker, häufiger Kontraktionen, die noch nach 7 Stunden, wenn auch schwächer, zu beobachten sind.
4	0,5	0,587 5	0,005 937 5	Zahlreiche schwache Kontraktionen.
5	0,35	0,411 25	0,004 156 1	Innerhalb 5 Stunden vier ganz schwache Kontraktionen.

Versuche mit Tetrachloräthan wieder. Dieser Körper bedingt Tonussteigerung mit nachfolgender Erschlaffung des Muskels; Kontraktionen wie bei den anderen Chlorderivaten haben wir nicht beobachtet. Die Grenzkonzentration, die noch eine Wirkung hervorruft, liegt bei 0,25 ccm in 1000 Ringer (**0,002 382 5 Mol**). Pentachloräthan zeigt bei einer Konzentration von 0,1 ccm in 1000 ccm Ringer (0,000 837 Mol) eine geringe Steigerung mit ganz geringen Kontraktionen. Die Grenzkonzentration die noch wirkt, liegt bei **0,000 042 2 Mol.** Hexachloräthan, dessen Löslichkeit noch geringer ist, zeigt bei einem Gehalt von 0,01 g in

Tabelle VI.

Tetrachloräthan, $\begin{array}{l} CHCl_2 \\ | \\ CHCl_2 \end{array}$ · Mol.-Gew. 167,9, spez. Gew. 1,6.

Nr.	Konzentration der angewandten Lösung in 1000 ccm			Resultat
	ccm	g	Mol.	
1	1,25	2,0	0,011 913	Sehr starke Tonussteigerung, die nach einer Stunde etwa ihr Maximum erreicht hat und nach einer weiteren Stunde zur Norm gesunken ist.
2	1,0	1,6	0,009 53	Tonussteigerung mit nachfolgender starker Erschlaffung.
3	0,5	0,8	0,004 765	Kaum Tonussteigerung, dann Erschlaffung.
4	0,25	0,4	0,002 382 5	Ganz geringe Tonussteigerung, und Erschlaffung.
5	0,125	0,2	0,001 191 3	Keine Wirkung.

Tabelle VII.

Dichloräthylen, $\begin{array}{l} CHCl \\ \| \\ CHCl \end{array}$ · Mol.-Gew. 96,956, spez. Gew. 1,25.

Nr.	Konzentration der angewandten Lösung in 1000 ccm			Resultat
	ccm	g	Mol.	
1	1,0	1,25	0,012 84	Sofort Kontraktionen und geringe Tonussteigerungen. Starke Kontraktionen nach 6 Stunden.
2	0,5	0,625	0,006 32	Sofort Kontraktionen und geringe Tonussteigerung.
3	0,3	0,037 5	0,003 852	Sofort Kontraktionen, die mehrere Stunden andauern.
4	0,25	0,312 5	0,003 21	Sofort Kontraktionen, die allmählich geringer werden, aber immer andauern.
5	0,2	0,025 0	0,002 568	Sofort Kontraktionen, die auch noch nach 10 Stunden andauern.
		Bild 5		
6	0,15	0,018 75	0,001 926	Geringe Tonusabnahme und ganz vereinzelt Kontraktionen.
7	0,1	0,012 5	0,001 284	Geringe Tonusabnahme, dann gerade Linie.

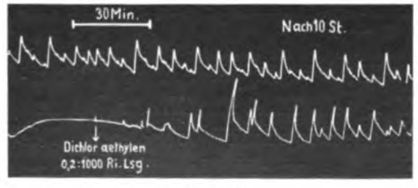


Abb. 5.

1000 Ringer zuerst eine Tonussenkung, nach 6 Stunden folgt eine geringe Tonussteigerung, Kontraktionen fehlen. Verdünntere Lösungen zeigen keine Wirkungen. Die Versuche mit Dichloräthylen finden sich in *Tabelle VII* (vgl. auch Abb. 5). Die wirksame Grenzkonzentration liegt bei 0,15 ccm in 1000 Ringer, entsprechend 0,001 926 Mol. Die Versuche mit Trichloräthylen zeigt *Tabelle VIII*. Die wirksame Grenzkonzentration entspricht 0,05 ccm in 1000 Ringer = 0,000 559 37 Mol.

Die Versuche mit Tetrachloräthylen gibt *Tabelle IX* wieder. Die wirksame Grenzkonzentration entspricht 0,04 ccm in 1000 Ringer, entsprechend 0,000 39 Mol. Die wirksamen Grenzkonzentrationen der untersuchten Körper habe ich in Tabelle A zusammengestellt.

Tabelle VIII.

Trichloräthylen, $\begin{array}{c} CHCl \\ \| \\ CCl_2 \end{array}$ · Mol.-Gew. 131,4, spez. Gew. 1,47.

Nr.	Konzentration der angewandten Lösung in 1000 ccm			Resultat
	ccm	g	Mol.	
1	0,8	1,176	0,008 95	Geringe Tonuszunahme, dann starke Tonusabnahme und geringe Kontraktionen, dann wieder Tonussteigerung.
2	0,4	0,588	0,004 475	Kurze Tonussteigerung, dann Abnahme und starke Kontraktionen, nach einer Stunde fast gerade Linien, allmählich wieder Tonussteigerung.
3	0,2	0,294	0,002 237 5	Tonusabnahme mit Kontraktionen, die noch nach 10 Stunden da sind. Zuletzt noch geringe Tonuszunahme.
4	0,1	0,147	0,001 118 75	Geringe Tonusabnahme, aber starke Kontraktionen während des ganzen Versuchs; später langsam geringe Tonuszunahme.
5	0,05	0,0735	0,000 559 37	Nach 2 Stunden geringe Kontraktionen.

Tabelle IX.

Tetrachloräthylen, $\begin{array}{c} CCl_2 \\ \| \\ CCl_2 \end{array}$ · Mol.-Gew. 165,84, spez. Gew. 1,619.

Nr.	Konzentration der angewandten Lösung in 1000 ccm			Resultat
	ccm	g	Mol.	
1	0,05	0,080 95	0,000 488	Nach 2 Stunden eine Kontraktion, sonst gerade Linie.
2	0,05	0,080 95	0,000 488	Nach 1/2 Stunde Beginn von zahlreichen kleinen Kontraktionen, die 4 Stunden andauern; dann fast gerade Linie.
3	0,04	0,064 76	0,000 39	Nach 2 Stunden vereinzelt Kontraktionen.
4	0,03	0,048 57	0,000 292 8	Ganz geringe Tonusabnahme, gerade Linie.

Mit Ausnahme des Tetrachloräthans und Hexachloräthans, bei denen wir nur Tonusänderungen gesehen haben, haben wir bei allen diesen Halogenderivaten in qualitativer Hinsicht die gleiche Wirkung festgestellt; die Unterschiede sind quantitativer Art. Die Wirksamkeit der geprüften Körper nimmt in der Reihenfolge: Hexachloräthan, Tetrachloräthan, Trichloräthylen, Pentachloräthan, Tetrachlormethan, Dichloräthylen, Tetrachloräthan, Äthylendichlorid, Äthylidenchlorid, Chloroform, Dichlormethan ab. Wenn wir diese Befunde mit den

Tabelle A.

Tabellen		ccm	g	Mol	Wirkungszahl $CHCl_3 = 1$
I	Dichlormethan, CH_2Cl_2	0,5	0,661	0,007 782	0,6
II	Chloroform, $CHCl_3$	0,4	0,595 6	0,004 988 7	1
III	Tetrachlormethan, CCl_4	0,15	0,239 2	0,001 504	3,3
IV	Äthylendichlorid, CH_2Cl–CH_2Cl	0,25	0,250 42	0,002 53	1,9
V	Äthylidenchlorid, CH_3–$CHCl_2$	0,35	0,411 25	0,004 156 1	1,2
VI	Tetrachloräthan, $CHCl_2$–$CHCl_2$	0,25	0,4	0,002 382 5	2
VII	Pentachloräthan, CCl_3–$CHCl_2$	0,1	0,169 26	0,000 837	5,9
VIII	Hexachloräthan, CCl_3–CCl_3	—	0,01	0,000 042 2	118
IX	Dichloräthylen, $CHCl$–$CHCl$	0,15	0,018 75	0,001 926	2,6
X	Trichloräthylen, $CHCl$–CCl_2	0,05	0,073 5	0,000 559 37	8,9
XI	Tetrachloräthylen, CCl_2–CCl_2	0,04	0,048 57	0,000 39	12,7

früheren Versuchen, in denen wir die Wirkung dieser Körper in bezug auf die Hämolyse, Narkose, Wirkung auf das isolierte Froschherz, Hefegärung, antiseptische Wirkung geprüft haben, verglichen haben, so ergibt sich die in Tabelle B wiedergegebene Übersicht. Es geht daraus hervor, daß wir keine genaue Übereinstimmung mit den früheren Versuchen bekommen. Wir wollen darauf nicht näher eingehen, sondern nur noch darauf hinweisen, daß sowohl in der Methan- als auch in der Äthan- und Äthylenreihe die Wirksamkeit mit der Zahl der Halogenatome zunimmt. Damit bestätigt sich eine schon lange bekannte Regel.

Steht an	Hämolyse	Narkose	In bezug auf die Wirkung auf das isolierte Froschherz	die Hefegärung	die Wirkung auf Bakterien	die Wirkung auf glatte Muskeln
1. Stelle	Tetrachlormethan, CCl_4	Hexachloräthan, CCl_3-CCl_3	Pentachloräthan, CCl_3-CHCl_2	Tetrachloräthan, $CHCl_2-CHCl_2$	Hexachloräthan, CCl_3-CCl_3	Hexachloräthan, CCl_3-CCl_3
2. „	Tetrachloräthan, $CHCl_2-CHCl_3$	Pentachloräthan, CCl_3-CHCl_2	Tetrachloräthan, $CHCl_2=CHCl_2$	Chloroform, $CHCl_3$	Tetrachloräthylen, $CCl_2=CCl_2$	Tetrachloräthylen, $CCl_2=CCl_2$
3. „	Chloroform, $CHCl_3$	Tetrachloräthan, $CHCl_2-CHCl_2$ Trichloräthylen, $CHCl-CCl_2$	Tetrachlormethan, CCl_4	Äthylidenchlorid, CH_3-CHCl_2	Pentachloräthan, $CCl_3=CHCl_2$	Trichloräthylen, $CHCl=CCl_2$
4. „	Äthylidenchlorid, CH_3-CHCl_2	Tetrachloräthylen, CCl_2-CCl_2	Trichloräthylen, $CHCl=CCl_2$	Äthylendichlorid, CH_2Cl-CH_2Cl	Tetrachlormethan, CCl_4	Pentachloräthan, $CCl_3=CHCl_2$
5. „	Äthylendichlorid, CH_2Cl-CH_2Cl	Äthylidenchlorid, CH_3-CHCl_2	Äthylidenchlorid, $CH_3=CHCl_2$	Dichlormethan, CH_2Cl_2	Trichloräthylen, $CHCl=CCl_2$	Tetrachlormethan, CCl_4
6. „	Dichlormethan, CH_2Cl_2	Tetrachlormethan, CCl_4	Dichloräthylen, $CHCl=CHCl$		Dichloräthylen, $CHCl=CHCl$	Dichloräthylen, $CHCl=CHCl$
7. „	—	Chloroform, $CHCl_3$ Äthylendichlorid, CH_2Cl-CH_2Cl	Chloroform, $CHCl_3$	—	Äthylidenchlorid, CH_3-CHCl_2	Tetrachloräthan, $CHCl_2-CHCl_2$
8. „	—	Dichloräthylen, $CHCl=CHCl$	Äthylendichlorid, $CH_2Cl=CH_2Cl$	—	Tetrachloräthan, $CHCl_2-CHCl_2$	Äthylendichlorid, CH_2Cl-CH_2Cl
9. „	—	Dichlormethan, CH_2Cl_2	Dichlormethan, CH_2Cl_2	—	Äthylendichlorid, CH_2Cl-CH_2Cl Chloroform, $CHCl_3$	Äthylidenchlorid, CH_3-CHCl_2
10. „	—	—	—	—	Dichlormethan, CH_2C_2	Chloroform, $CHCl_3$
11. „	—	—	—	—	—	Dichlormethan, CH_2Cl_2

Eine Ausnahme von dieser Regel konnte ich früher feststellen. Trichloräthylen wirkt nämlich stärker narkotisch als Tetrachloräthylen[1]). Bei den eingangs erwähnten Untersuchungen in Gemeinschaft mit *A. Goldscheider* nimmt mit der Zahl der Chloratome die Wirksamkeit nicht zu, sondern ab. Hier spielt der Siedepunkt eine ausschlaggebende Rolle. Je flüchtiger die Verbindung, um so wirksamer ist sie.

In praktischer Hinsicht ist es interessant, daß man das Tetrachlormethan (Tetrachlorkohlenstoff) therapeutisch bei Darmparasiten angewandt hat. Man wird nicht fehlgehen, wenn man annimmt, daß die geschilderten Versuche die experimentelle Stütze für die therapeutische Wirkung liefern.

Das Verhalten einiger Alkohole sowie auch des Acetons und des Äthers.

Beim Methylalkohol habe ich in Konzentrationen von 5 bis 20 Proz. keine deutliche Wirkung gesehen. In einem Versuch trat bei Applikation einer 10proz. Lösung eine geringe Tonusabnahme mit nachfolgenden ganz kleinen Kontraktionen ein. Äthylalkohol in Konzentrationen von 10 bis 20 Proz. ruft nur eine geringe Tonusabnahme hervor. Deutlicher ist die Wirkung beim Amylalkohol, nach Applikation von 2 bis 4proz. Lösungen. Beim Propylalkohol sah ich in Konzentrationen von 3 bis 20 Proz. sowohl Tonussteigerung als auch geringe Kontraktionen. Beim Isopropylalkohol sind in Konzentrationen von 10 bis 20 Proz. keine deutlichen Wirkungen zu sehen. Der Butylalkohol (normal) bedingt in Konzentrationen von 4 bis 8 Proz. nur Änderung des Tonus. Dasselbe gilt vom Isopropylalkohol (6- bis 12proz.), vom tertiären Butylalkohol (2,5- bis 5proz.) sowie auch vom tertiären Isobutylalkohol. Aus dieser Schilderung geht hervor, daß die Alkohole in bezug auf die Wirkung auf die glatte Muskulatur recht schwach wirken; insbesondere ist hier die charakteristische Wirkung der Chlorderivate, nämlich die starken Kontraktionen, die der glatte Muskel stundenlang in wässerigen Lösungen ausführt, nicht vorhanden.

Das Aceton kommt in seinen Wirkungen den Chlorderivaten nahe; wir haben hier bei Konzentrationen von 1 bis 20 Proz. sowohl Änderungen des Tonus als auch starke Kontraktionen gesehen. Etwas schwächer ist die Wirkung des Äthers (Diäthyläther).

Zusammenfassung.

1. Dichlormethan, Chloroform, Tetrachlormethan, Äthylendichlorid, Äthylidenchlorid, Pentachlormethan, Di-, Tri- und Tetrachloräthylen in wässerigen Lösungen auf ganglienfreie Muskeln des Blutegels appliziert, rufen Tonusänderungen und Kontraktion hervor. Bei Tetrachloräthan und Hexachloräthan wurden nur Tonusänderungen beobachtet.

---

[1]) Vgl. diese Zeitschr. 120, 203, 1921.

2. Durch Barium läßt sich diese Wirkung verstärken, wahrscheinlich liegt der Angriffspunkt im Muskel und nicht in Nervenendapparaten.

3. Die Wirksamkeit der geprüften Körper nimmt in der Reihenfolge Hexachloräthan, Tetrachloräthylen, Trichloräthylen, Pentachloräthan, Tetrachlormethan, Dichloräthylen, Tetrachloräthan, Äthylendichlorid, Äthylidenchlorid, Chloroform, Dichlormethan ab. Sowohl in der Methan-, als auch in der Äthan- und Methylenreihe nimmt die Wirksamkeit mit der Zahl der Chloratome zu.

4. Die therapeutische Anwendung des Tetrachlormethans als Anthelminthikum ist durch die erregende Wirkung auf die glatte Muskulatur zu erklären.

5. Methyl-, Äthyl-, Amyl-, Propyl-, Isopropyl-, Butyl- und Isobutylalkohol rufen nur geringe Änderungen des Tonus hervor. Die Wirkung ist sehr schwach. Nur beim Propylalkohol wurde Kontraktion beobachtet.

6. Aceton und Diäthyläther zeigen eine ähnliche Wirkung wie die Chlorderivate.

Über den Einfluß von Kalium- und Calciumsalzen auf die Erregbarkeit des Froschnerven.

(Untersucht mit Zeit- und Momentanreizen.)

Von

Ernst Blumenfeldt.

(Aus dem physiologischen Institut der Berliner tierärztlichen Hochschule.)

(Eingegangen am 31. Januar 1925.)

Mit 5 Abbildungen im Text.

Im folgenden soll über Reizversuche berichtet werden, die zum Ziele hatten, den Einfluß von isotonischen Kalium- und Calciumlösungen, die der Ringerlösung in verschieden starker Konzentration zugesetzt wurden, auf die Erregbarkeit des N. ischiadicus des Frosches zu studieren. Zur Beurteilung der durch diese Lösungen gesetzten Veränderungen wurde das Verhalten des Nerv-Muskelpräparats gegenüber dem konstanten Strome und gegenüber einem zeitlich genau begrenzten Stromstoß bei verschieden langer Einwirkungsdauer der Lösungen untersucht.

Von ähnlichen Versuchen ist bisher wenig berichtet worden. Denn einerseits ist die Mehrzahl der Untersucher, die sich mit der Frage der Kalium- und Calciumwirkung auf die Erregbarkeit des Nerven, speziell auch im Hinblick auf die Wirkung von Zeitreizen, beschäftigt haben, nicht von mit Ringerlösung verdünnten Salzlösungen, sondern von reinen Salzlösungen ausgegangen, ein Verfahren, das *Höber*[1]) mit Recht als unphysiologisch bezeichnet, da die reinen Salzlösungen als anorganisches Milieu abnorme Zellzustände schaffen (abnorme Permeabilität, Änderungen des normalen osmotischen Innendruckes, fibrilläre Zuckungen am Muskel, Stillstand des Froschherzens usw.). Andererseits sind auch die kürzlich aus dem *v. Kries*schen Laboratorium von *Jahn*[2]) mitgeteilten Versuche mit dem *v. Kries*schen Federrheotom, die mit isotonischen bzw. mit Kochsalz verdünnten Kalium-, Calcium- und anderen Salzlösungen am Froschnerven angestellt wurden, nicht un-

---

[1]) *Höber*, Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe, S. 650. Leipzig 1924.

[2]) *Jahn*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **206**, 66, 1924.

mittelbar mit den unserigen vergleichbar, da dort die Erregbarkeit für Ströme mit langer und kurzer Anstiegsdauer (Zeit- und Momentanreize genannt) miteinander verglichen wurde, während es sich bei den folgenden Untersuchungen stets um rechtwinklig ansteigende Ströme handelt, von denen der eine einen Stromstoß von praktisch unbegrenzter, der andere einen solchen von zeitlich genau begrenzter Dauer (kurz Zeitreiz genannt) darstellt.

Was nun meine eigenen Untersuchungen anbetrifft, so wählte ich für den genau abstufbaren und exakt meßbaren Stromstoß *Chronaxiebestimmungen* des Nerven, eine Methode, die, fußend auf den zahlreichen Untersuchungen von *Lapicque*[1]) und seinen Mitarbeitern und Schülern, zurzeit besonders in Frankreich sowohl für rein physiologische Versuche wie für Reizversuche am Menschen viel geübt wird und nach Angabe der Autoren sehr exakte und verwendbare Resultate liefert. Die *Chronaxie* wird nach Angabe von *Lapicque* so gefunden, daß man zunächst die Reizschwelle [Minimalzuckung des betreffenden Gebildes (Muskel, Nerv usw.)] für den konstanten Strom ermittelt, d. h. die Stromintensität sucht, bei der eben eine Zuckung auftritt (von *Lapicque* mit dem Ausdruck *Rheobase* bezeichnet), darauf die Rheobase verdoppelt und feststellt, wie lange Zeit ein Strom von doppelter Stärke einwirken muß, um gleichfalls eine Minimalzuckung auszulösen. Der Vorteil der Chronaxiebestimmungen lag für mich unter anderem auch darin, daß ich die Reizschwelle für den konstanten Strom dabei miterhielt, also keine weiteren Bestimmungen hierfür mehr nötig waren.

Für den konstanten Strom benutze ich in üblicher Weise einen Akkumulatorstrom, der unter feiner Abstufungsmöglichkeit seiner Spannung mittels eines Rheostaten den Nerv traf, und dessen Intensität an einem in den Stromkreis eingeschalteten Amperemeter direkt in Milliampere gemessen wurde. Für die eigentliche Chronaxiebestimmung, d. h. zur Herstellung des Zeitreizes, bediente ich mich, ausgehend von dem von *Cremer*[2]) modifizierten Helmholtzpendel mit acht Kontakten, das ich früher[3]) zur Bestimmung des von *Cremer*[4]) angegebenen Ampere-Coulombquotienten am Muskel mit Erfolg angewandt hatte, des von mir vereinfachten Helmholtzpendels, dessen Bau und Handhabung an anderer Stelle ausführlich beschrieben wird[5]). Ich will daher

---

[1]) *Lapicque*, Journ. de physiol. et de pathol. gen. 1908, 1909, 1911 usw.; C. r. des séances de la soc. de biol. 1907, 1908, 1909 usw.; *Bourgignon*, La Chronaxie chez l'homme. Paris 1923.

[2]) *Cremer*, Zentralbl. f. Physiol. **21**, Nr. 15.

[3]) *Blumenfeldt*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **35**, 76, 1923.

[4]) *M. Cremer*, Ber. über d. ges. Physiol. **2**, H. 2; *Cremers* Beitr. z Physiol. **2**, H. 1, 1922.

[5]) Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. 1925.

hier auf das Prinzip des Apparats und seine Anwendung nur kurz hinweisen. Ein aufgehängtes Pendel (Schmiedeeisenprisma) stößt beim Fallenlassen hintereinander zwei Kontakte auf und bewirkt damit eine Unterbrechung der an den Kontakten liegenden Stromkreise. Da die Kontakte mikrometrisch gegeneinander verschiebbar sind, kann die Einwirkungszeit des Stromstoßes, die man zwischen ihr Aufschlagen legt (zuerst Öffnen eines Kurzschlusses, dann Öffnen des Hauptkreises), nach Belieben geändert werden. Das vereinfachte Helmholtzpendel arbeitet, wie ich an Versuchen mit dem normalen Nerv-Muskelpräparat nachweisen konnte, mit einer Genauigkeit, die für praktische Zwecke vollauf genügt, und erlaubt dabei die Applikation von Stromstößen von der Dauer von Bruchteilen von σ ($^1/_{1000}$ Sekunden). Betreffs der Berechnung der Stromstoßdauer und der speziellen Versuchsanordnung verweise ich auf meine demnächst erscheinende Arbeit. Aus dem Produkt von doppelter Rheobase und Chronaxie wurde außerdem in einfacher Weise die angewendete Quantität berechnet ($Q = J \cdot t$). Damit hatte ich zur Beurteilung der Erregbarkeitsveränderungen des Nerven drei Werte zur Verfügung:

die Intensität (*Rheobase*);
die Dauer des reizenden Stromes (*Chronaxie*);
die Menge des eben reizenden Stromes (*Quantität*).

Diese drei Werte wurden bei jedem Versuch für die verschiedenen Zeitpunkte der Reizung ermittelt und in der Weise kurvenmäßig dargestellt, daß auf den Ordinaten die Einwirkungszeiten der Lösungen, auf den Abszissen die Werte für Rheobase, Chronaxie und Quantität eingetragen wurden. Bei den Hauptversuchen, d. h. bei den besonders charakteristischen Versuchen, wurden ferner die Durchschnittswerte aus sämtlichen einschlägigen Versuchen berechnet und gleichfalls kurvenmäßig dargestellt.

Zur sonstigen Versuchstechnik sei noch folgendes bemerkt:

Als Versuchsobjekt diente das in üblicher Weise hergestellte Ischiadicus-Gastrocnemiuspräparat von Zimmerfröschen (Temporarien). Zur Zuleitung des Reizstromes benutzte ich die von *Cremer* für solche Versuche angegebenen unpolarisierbaren Elektroden mit Paraffinkammer und 10 mm Elektrodenabstand [vgl. *Rosenberg* und *Schnauder*[1]).]

Was speziell die Art der Einbringung des Präparats in die betreffende Untersuchungslösung betrifft, so wurde, um zu verhindern, daß auch der Muskel mit der Lösung in Berührung kam und damit keine reinen Nervenwerte erhalten wurden, folgendermaßen verfahren: Der Muskel wurde an seiner Sehne in einem mit einem Gummistöpsel verschlossenen

[1]) *H. Rosenberg* und *F. Schnauder*, Zeitschr. f. Biol. **78**, 175, 1923.

Reagenzglas aufgehängt, welches so weit mit der Lösung angefüllt war, daß der unten hängende Nerv bis etwa 1 cm Entfernung von der Eintrittsstelle in den Muskel in die Flüssigkeit eintauchte. Muskel und distales Nervenstück befanden sich dadurch gleichzeitig in einer feuchten Kammer. Nachdem der Nerv die gewünschte Zeit in der Lösung gelegen hatte, wurde er in die Paraffinkammer gebracht, auf seine Erregbarkeit für Rheobase und Chronaxie untersucht, wieder in die Lösung versenkt und dies in bestimmten Zeiträumen so lange wiederholt, bis der Versuch beendet war. An Kontrollversuchen mit Ringerlösung, in der der Nerv für die Dauer einer Stunde gelassen war, zeigte es sich, daß die Erregbarkeit gegenüber den angewendeten Strömen sich nicht geändert hatte, also eine Schädigung speziell des Muskels mit unserer Methode nicht eingetreten war.

I. Versuche mit Kaliumchloridlösungen.

Da sich an Vorversuchen gezeigt hatte, daß die reine, für den Froschnerv isotonische, 0,891 g enthaltende KCl-Lösung zu giftig war, um daran die Wirkung der K-Ionen zu studieren, da schon nach einer Einwirkungszeit von wenigen Minuten selbst bei Anwendung relativ starker Ströme der Nerv vollständig unerregbar war, verdünnte ich für die Hauptversuche diese Lösung mit für den Frosch isotonischer Ringerlösung (0,7 Proz. NaCl, 0,02 Proz. KCl, 0,02 Proz. $CaCl_2$ enthaltend) in folgenden Abstufungen:

1.	9 ccm isotonische KCl-Lösung	= 0,0802 g	KCl
	1 „ Ringerlösnng	= 0,0002 g	„
	10 ccm	= 0,0804 g	KCl-Gehalt
2.	2 ccm isotonische KCl-Lösung	= 0,0178 g	KCl
	8 „ Ringerlösung	= 0,0016 g	„
	10 ccm	= 0,0194 g	KCl-Gehalt
3.	1 ccm isotonische KCl-Lösung	= 0,0089 g	KCl
	9 „ Ringerlösung	= 0,0018 g	„
	10 ccm	= 0,0107 g	KCl-Gehalt
4.	0,5 ccm isotonische KCl-Lösung	= 0,0045 g	KCl
	9,5 „ Ringerlösung	= 0,0019 g	„
	10 ccm	= 0,0064 g	KCl-Gehalt

Da 10 ccm der angewandten Ringerlösung 0,0020 g KCl enthalten, haben wir, vollständige Dissoziation vorausgesetzt, in

Lösung 1 etwa das 40fache
„ 2 „ „ 10 „
„ 3 „ „ 5 „
„ 4 „ „ 3 „

des K-Ionengehaltes der Ringerlösung.

Auch die Lösung 1 mit, gegenüber der Ringerlösung, etwa 40fach gesteigertem K-Ionengehalt wirkte noch viel zu toxisch. Nach 5 Minuten Einwirkungszeit erwiesen sich stärkste Reize völlig unwirksam, und auch nach Auswaschen mit Ringerlösung während 15 Minuten war noch kein Effekt zu konstatieren. Erst als der Nerv für weitere 60 Minuten in die

Ringerlösung gebracht worden war, stellte sich seine Erregbarkeit annähernd wieder her. Als ich dann die KCl-Lösung wiederum 5 Minuten einwirken ließ, war die Erregbarkeit der Nerven gleichfalls wieder aufgehoben (s. Tabelle I).

Tabelle I.

	Rheobase	Chronaxie	Quantität
Normal	2,64 . 10^{-6} Milliamp.	0,53 σ	2,788 . 10^{-9} Coulomb
5 Min. Einwirkung der KCl-Lösung	—	—	—
15 Min. Auswaschen mit Ringerlösung	—	—	—
Weitere 60 Min. Auswaschen mit Ringerlösung	3,0 . 10^{-6} "	0,46 σ	2,76 . 10^{-9} "
5 Min. Einwirkung der KCl-Lösung	—	—	—
20 Min. Auswaschen mit Ringerlösung	—	—	—

Angewendete Lösungen: 1. 9 ccm isotonisches KCl + 1 ccm Ringer.
2. Ringerlösung.

Bei einem zweiten Versuch mit derselben KCl-Konzentration war nach 6 Minuten Einwirkungszeit zwar eine Muskelzuckung bei etwa zehnfach erhöhter Stromintensität und gleichzeitiger Zunahme der Chronaxie noch auslösbar, nach weiteren 3 Minuten war aber auch hier der Nerv völlig unerregbar geworden. Daß Muskel und nicht in Lösung befindlicher Nerventeil dabei nicht gelitten hatten, zeigte ein gleichzeitiger Kontrollversuch am distalen Nervenstück; der Schwellenwert für die Rheobase hatte sogar gegenüber dem ursprünglichen Wert deutlich abgenommen (s. Tabelle II).

Tabelle II.

	Rheobase	Chronaxie	Quantität
Normal	5,04 . 10^{-6} Milliamp.	0,48 σ	4,838 . 10^{-9} Coulomb
6 Min. Einwirkungsdauer der KCl-Lösung auf Nervenstück *a*	etwa 50,0 . 10^{-6} "	0,71 σ	etwa 71,0 . 10^{-9} "
6 Min. Einwirkungsdauer der KCl-Lösung auf Nervenstück *b* . . .	2,52 . 10^{-6} "	0,48 σ	2,419 . 10^{-9} "
Weitere 3 Min. Einwirkungsdauer d. Lösung auf Nervenstück *a* .	—	—	—
Weitere 3 Min. Einwirkungsdauer d. Lösung auf Nervenstück *b* .	2,52 . 10^{-6} "	0,66 σ	3,326 . 10^{-9} "

Angewendete Lösungen: 9 ccm isotonisches KCl + 1 ccm Ringer.
Reizung: 1. des mit der Lösung behandelten Nerventeils (*a*),
2. des nicht mit der Lösung in Berührung gewesenen distalen Nerventeils (*b*).

Die weiteren Untersuchungen wurden daher mit stärker verdünnten Lösungen angestellt.

Hierbei ergab sich zunächst, daß die am stärksten verdünnte Lösung 4 (mit gegenüber Ringer dreifachem K-Ionengehalt) eine, wenn auch nicht sehr hochgradige Veränderung der Nervenerregbarkeit bei einer Einwirkungsdauer von etwa 1 Stunde zur Folge hatte; ich hielt es aber doch für ratsam, stärkere Konzentrationen anzuwenden, um schneller zum Endeffekt zu gelangen.

Am geeignetsten erwies sich von diesem Gesichtspunkte aus betrachtet die Lösung 3 mit fünffachem K-Ionengehalt gegenüber der Ringerlösung. Denn bei Lösungen mit *doppelt* so hohem K-Ionengehalt (Lösung 2) trat die toxische Wirkung immer noch zu schnell in Erscheinung, wie aus Abb. 1, die die aus zehn solchen Versuchen errechneten Durchschnittskurven für Rheobase, Chronaxie und Quantität enthält, deutlich hervorgeht. Man sieht hier als Ausdruck der Kaliwirkung, daß nach 10 Minuten Einwirkungszeit die Werte für die Rheobase um 20 Proz. absinken, die Reizbarkeit der Nerven gegenüber dem konstanten, praktisch unbegrenzt dauernden Strom also gesteigert wird, während umgekehrt die entsprechenden Chronaxiewerte um 5 Proz. ansteigen. Die Quantität bleibt dementsprechend nicht dieselbe, sondern nimmt gleichfalls ab, da das Absinken der Rheobase prozentual genommen größer ist als das Ansteigen der Chronaxie. Bei 20 Minuten Einwirkungsdauer kommt dagegen die Giftwirkung der K-Ionen, die bei dieser Konzentration anscheinend sehr nahe der spezifischen Wirkung liegt, merklich zum Ausdruck; die Rheobase steigt bei gleichzeitigem relativ geringem Abfall der Chronaxiekurve stark an, um nach 30 Minuten auf über das Dreifache des Ausgangswertes zu gehen. Fast ebenso steil steigt auch die Kurve für die eben reizende Quantität. In einem Teil der Fälle war der Nerv nach 30 Minuten überhaupt unerregbar geworden; der Teil des Vergiftungsverlaufs, in dem der Nerv unerregbar wurde, kam dabei nicht immer zur Beobachtung, so daß in diesen Fällen nur der Eintritt der Unerregbarkeit konstatiert werden konnte. Ich habe nun bei einem dieser Versuche, bei dem die Rheobase und die Quantität gegenüber ihrem ursprünglichen Wert besonders stark angestiegen waren (um etwa das Siebenfache), durch Auswaschen mit Ringerlösung versucht, die K-Vergiftung der Nerven rückgängig zu machen. Nach 15 Minuten Einwirkungszeit der Ringerlösung gelang es mir, wieder den ursprünglichen Wert für die Rheobase zu erhalten. Da auch der Chronaxiewert, der sich im übrigen trotz starken Anstiegs der Rheobase nur um einige Prozent geändert hatte, sich dem Ausgangswerte sehr näherte, erhielt ich auch für die Quantität praktisch den Ausgangswert. Nach weiterem Einwirken der Ringerlösung für 20 Minuten waren die Werte annähernd die gleichen (s. Abb. 2). Es war also möglich, die Wirkung des Kaliums durch Auswaschen mit Ringerlösung reversibel zu machen.

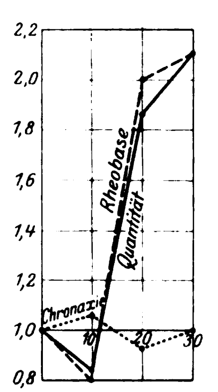


Abb. 1. Durchschnittswerte aus 10 Versuchen für Rheobase, Chronaxie und Quantität bei Einwirkungsdauer von 10, 20 und 30 Min. der Lösg. 2 (2 ccm isot. KCl und 8 ccm Ringer). Ausgangswerte = 1,0 gesetzt.

Das typische Bild der K-Wirkung gaben aber meiner Ansicht nach die Versuche mit der Lösung 3, also mit einer Lösung mit etwa fünffachem K-Ionengehalt gegenüber der Ringerlösung. Denn hier bestand einerseits eine deutlich spezifische Beeinflussung der Nervenerregbarkeit, andererseits

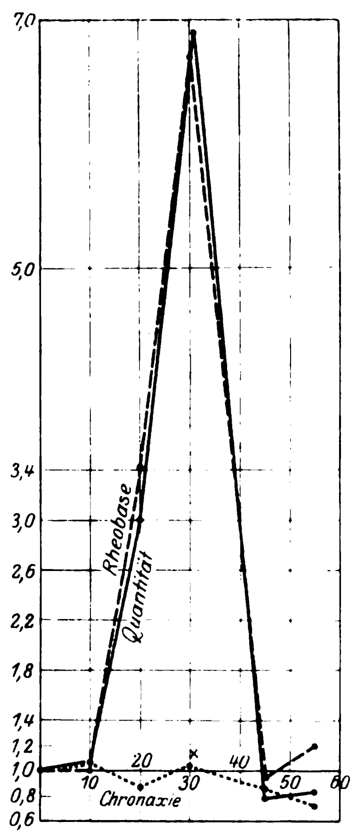


Abb. 2. Einzelversuch mit Lösung 2 (2 ccm KCl und 8 Ringerlösung) nach 30 Minuten Auswaschen mit Ringerlösung. Bei × Beginn des Einwirkens der Ringerlösung.

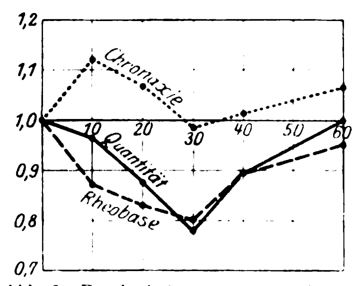


Abb. 3. Durchschnittswerte aus 12 Versuchen für Rheobase, Chronaxie und Quantität. Einwirkungsdauer 10, 20, 30 40 und 60 Minuten der Lösung 3 (enthaltend 1 ccm isot. KCl und 3 ccm Ringer). Ausgangswerte = 1,0 gesetzt.

war die Möglichkeit einer genügend langen Beobachtungsdauer gegeben, ohne daß die Resultate durch die Giftwirkung der K-Ionen störend beeinflußt wurden.

Wie aus Abb. 3, die eine Durchschnittskurve aus 12 solchen Versuchen darstellt, hervorgeht, nimmt die Reizschwelle für die Rheobase bis zu einer Einwirkungsdauer dieser Lösung von 30 Minuten stetig ab, die der Chronaxie steigt dagegen in den ersten 10 Minuten an, fällt für die nächsten 20 Minuten bis zu ihrem ursprünglichen Wert ab und hat damit ihren tiefsten Stand erreicht, da dann ihr Reizschwellenwert wieder langsam aufsteigt. Infolgedessen zeigt die Durchschnittskurve für die Quantität zunächst einen etwas flacheren, dann einen steileren Abfall, um ebenso wie die Intensitätskurve nach 30 Minuten ihren niedrigsten Wert zu erreichen. Dieser Zeitpunkt scheint einen Umschlagspunkt im Verhalten der Nervenerregbarkeit darzustellen, indem jetzt sowohl Rheobase wie Chronaxie (und damit auch die Quantität) wieder zunehmen, bis nach 60 Minuten die Rheobase ihren ursprünglichen Wert erreicht hat und die Chronaxie etwa 5 Proz. darüber liegt. Der Unterschied gegenüber dem Verhalten der doppelt so viel K-Ionen enthaltenden Lösung 2 ist also sehr manifest, da dort schon nach 20 Minuten Einwirkungszeit eine beträchtliche Zunahme von Rheobase und Quantitätschwellenwert zu konstatieren gewesen war.

Zusammenfassend können wir also sagen, daß unter dem Einfluß der K-Ionen bei Gegenwart von, wenn auch im Vergleich zur isotonischen Ringerlösung, etwas verminderten Mengen von Na- und Ca-Ionen die Erregbarkeit der Froschnerven für den konstanten Reizstrom unter günstigen Konzentrationsverhältnissen dauernd zunimmt, um nach einer halben Stunde Einwirkungszeit ihr Maximum zu erreichen. Da die Veränderungen bei Zeitreizen geringfügiger sind, zum

Teil sogar gleichsinnig verlaufen, verhält sich die zur Erregung benötigte eben reizende Quantität fast in gleicher Weise wie die Intensität, d. h. die Nervenreizbarkeit nimmt auch für die eben reizende Elektrizitätsmenge zu. Sobald aber eine bestimmte Konzentration überschritten wird, tritt die stark toxische Wirkung der K-Ionen durch rapide Abnahme der Erregbarkeit gegenüber dem konstanten Strome und der eben reizenden Elektrizitätsmenge sehr bald in Erscheinung. Andererseits ist es möglich, die Wirkung der K-Ionen durch entsprechend langes Auswaschen mit Ringerlösung vollständig rückgängig zu machen, so daß für Rheobase, Chronaxie und Quantität annährend die ursprünglichen Werte erreicht werden.

Um dem Einwand zu begegnen, daß normalerweise bei fallenden Werten für die Rheobase auch die Werte für die Quantität abnehmen, wurde ein Ringernerv in der Weise gereizt, daß zunächst die Chronaxie in der üblichen Weise bestimmt wurde, und dann die Zeitwertbestimmungen unter langsamer Veränderung der doppelten Rheobase bis auf die einfache Rheobase wiederholt wurden. Hierbei ergab sich, daß die Quantität zunächst konstant blieb, um dann scharf anzusteigen und bei der einfachen Rheobase etwa den dreifachen Wert zu erreichen. Die Verhältnisse liegen hier also gerade umgekehrt wie beim Kaliumnerv.

II. Versuche mit Calciumchloridlösungen.

Auch für die Versuche mit Calciumchloridlösungen ging ich nicht von der reinen isotonischen 1,328proz. $CaCl_2$-Lösung aus (trotzdem sich an Vorversuchen gezeigt hatte, daß die Giftigkeit dieser Lösung die der reinen isotonischen KCl-Lösung bei weitem nicht erreichte), sondern ich stellte analog den K-Versuchen Verdünnungen mit Ringerlösung in folgenden Abstufungen her:

1.	9 ccm isotonische $CaCl_2$-Lösung	=	0,1195 g $CaCl_2$
	1 „ Ringerlösung	=	0,0002 g „
	10 ccm	=	0,1197 g $CaCl_2$-Gehalt
2.	5 ccm isotonische $CaCl_2$-Lösung	=	0,0664 g $CaCl_2$
	5 „ Ringerlösung	=	0,0010 g „
	10 ccm	=	0,0674 g $CaCl_2$-Gehalt
3.	2 ccm isotonische $CaCl_2$-Lösung	=	0,0266 g $CaCl_2$
	8 „ Ringerlösung	=	0,0016 g „
	10 ccm	=	0,0282 g $CaCl_2$-Gehalt
4.	1 ccm isotonische $CaCl_2$-Lösung	=	0,0133 g $CaCl_2$
	9 „ Ringerlösung	=	0,0018 g „
	10 ccm	=	0,0151 g $CaCl_2$-Gehalt
5.	0,5 ccm isotonische $CaCl_2$-Lösung	=	0,0066 g $CaCl_2$
	9,5 „ Ringerlösung	=	0,0019 g „
	10 ccm	=	0,0085 g $CaCl_2$-Gehalt

Da 10 ccm der angewandten Ringerlösung 0,002 g $CaCl_2$ enthalten, haben wir unter der Voraussetzung vollständiger Dissoziation in

Lösung 1 etwa das 60,0fache
„ 2 „ „ 34,0 „
„ 3 „ „ 14,0 „
„ 4 „ „ 7,5 „
„ 5 „ „ 4,3 „

des Ca-Ionengehaltes der Ringerlösung.

Aus den Versuchen mit Lösung 1, mit, gegenüber Ringerlösung, 60fachem Ca-Ionengehalt, ging zunächst hervor, daß noch nach 30 Minuten Einwirkungsdauer eine, wenn auch herabgesetzte, Erregbarkeit der Nerven vorhanden war; nach 60 Minuten war allerdings bei dieser starken Konzentration der Nerv unerregbar geworden und blieb meist auch nach Auswaschen mit Ringerlösung unerregbar. Nur in einem Falle gelang es mir, nach Einbringen in Ringerlösung für 60 Minuten die Erregbarkeit in vermindertem Grade wieder herzustellen, und zwar so, daß die Wirkung des Ca-Ions keineswegs aufgehoben wurde, da ich sogar eine stärkere Intensität und trotz verminderter Chronaxie eine größere Quantität benötigte als unmittelbar vor Eintritt der Vergiftung (s. Tabelle III).

Tabelle III.

	Rheobase	Chronaxie	Quantität
Normal	$3,6 \cdot 10^{-6}$ Milliamp.	0,57 σ	$4,104 \cdot 10^{-9}$ Coulomb
30 Min. $CaCl_2$-Einwirkg.	$15,6 \cdot 10^{-6}$ „	0,24 σ	$7,488 \cdot 10^{-9}$ „
Weitere 30 Min. $CaCl_2$-Einwirkung	—	—	—
60 Min. Ringerlösung . .	$18,6 \cdot 10^{-6}$ „	0,22 σ	$8,184 \cdot 10^{-9}$ „
20 Min. in $CaCl_2$	$21,6 \cdot 10^{-6}$ „	0,24 σ	$10,368 \cdot 10^{-9}$ „

Angewendete Lösungen: 1. 9 ccm isotonisches $CaCl_2$ + 1 ccm Ringer.
2. Ringerlösung.

Für die weiteren Versuche ging ich zu verdünnteren Ca-Lösungen über. Um einen gewissen Vergleich mit meinen K-Versuchen auch für schwächste Konzentrationen zu haben, untersuchte ich zuerst die Wirkung der Lösung 5 mit 4,3fachem Ca-Gehalt (gegenüber der Ringerlösung). Ein Effekt war hier selbst nach 60 Minuten Einwirkungszeit nicht zu konstatieren; Anfangs- und Endwerte für Rheobase und Chronaxie (und demnach auch für Quantität) waren genau dieselben.

Die Versuche mit Lösung 4 (7,5fachem Ca-Gehalt gegenüber Ringer) zeigten wechselndes Verhalten. In einem Versuch war eine stetig zunehmende Wirkung vorhanden, die sich im Steigen der Rheobasenwerte, geringem Abfallen der entsprechenden Chronaxiewerte und leichtem Anstieg der eben reizenden Strommengen äußerte. Bei anderen Versuchen blieb dagegen die Wirkung aus oder war nur sehr geringfügig. Da also eine konstante Beeinflussung der Erregbarkeit mit dieser Konzentration noch nicht zu erreichen war, verwendete ich für die Hauptversuche ausschließlich Lösung 2 und Lösung 3.

Was zunächst den Einfluß der Lösung 2 mit, gegenüber Ringerlösung, 34fachem Ca-Ionengehalt betrifft, so war in der Regel nach durchschnittlich 20 bis 30 Minuten Einwirkungsdauer ein sehr deutlicher und stets gleichsinniger Effekt festzustellen. So fand ich in einem Versuch (Abb. 4) Anstieg der Rheobase um mehr als das Fünffache, Abfall der Chronaxie um beinahe die Hälfte, Zunahme der Quantität um etwa das Dreifache. Nach weiteren 20 Minuten waren die Unterschiede noch größer geworden. Nach 70 Minuten Einwirkungszeit hatte die Rheobase einen noch etwas höheren Wert. Da aber die Chronaxie verhältnismäßig stärker abfiel (im ganzen Abnahme bis auf 28 Proz. des Ausgangswertes), zeigte die Quantitätskurve im Gegensatz zu ihrem bisherigen Verhalten gleichfalls ein Absinken. Die Muskelzuckung wurde gleichzeitig merklich schwächer, so daß man an Absterbeerscheinungen denken mußte. Diese merkwürdige Erscheinung, daß trotz Zunahme der Rheobase die Quantität abnahm, war in anderen Fällen nicht konstatierbar, sondern beide Werte nahmen bei gleichzeitigem Abfall der Chronaxie gleichsinnig zu; die Erregbarkeit des Nerven für den konstanten Strom und die eben reizende Strommenge nahm also weiter ab.

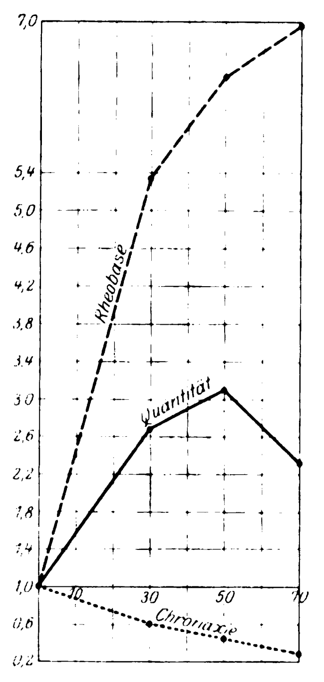


Abb. 4. Einzelversuch mit Lösung 2 (5 ccm isot. $CaCl_2$ + 5 ccm Ringer). Einwirkungsdauer 30, 40 u. 70 Minuten. Ausgangswerte = 1,0 gesetzt.

Am eindeutigsten waren die Versuche mit Lösung 3, also bei Lösungen mit, gegenüber Ringer, 14fachem Ca-Gehalt. Die Durchschnittswerte aus sechs solchen Versuchen sind aus Abb. 5 klar ersichtlich: Dauernde Zunahme der Rheobase (nach 10 Minuten um 50 Proz., nach 20 Minuten um 80 Proz., nach 40 Minuten um 280 Proz., nach 60 Minuten um 310 Proz.), stetige Abnahme der Chronaxie (in den entsprechenden Zeiten auf 85, 76, 70, 64 Proz. des Ausgangswertes), Zunahme der Quantität, wenn auch in geringerem Maße als die Rheobase, aber doch ausgesprochen (z. B. nach 60 Minuten um 210 Proz.).

Zusammenfassend, ergibt sich also aus den Ca-Versuchen, daß bei wirksamen Konzentrationen die Erregbarkeit der Nerven für den konstanten Strom mit der Einwirkungsdauer herabgesetzt wird. Die

Erregbarkeitsverminderung kann dabei so groß werden, daß erst ein siebenfach so starker Strom einen Effekt am Präparat auslöst. Umgekehrt nimmt die Erregbarkeit des Nerven gegenüber Zeitreizen im Sinne der Chronaxiebestimmung dauernd zu, d. h. für die Ströme von größerer Intensität ist eine kürzere Einwirkungszeit zur Auslösung der Minimalzuckung erforderlich als für die schwächeren Ströme in der Norm. Da aber die Chronaxie nicht in demselben Maße sinkt, wie die Rheobase ansteigt, sondern bei letzterer die Kurve viel steiler verläuft, resultiert für die Quantitätskurve ein — wenn auch im Verhältnis zur Rheobase geringer — Anstieg; d. h. die Erregbarkeit des Nerven für die eben reizende Elektrizitätsmenge wird ebenso wie für den konstanten Strom durch Ca herabgesetzt.

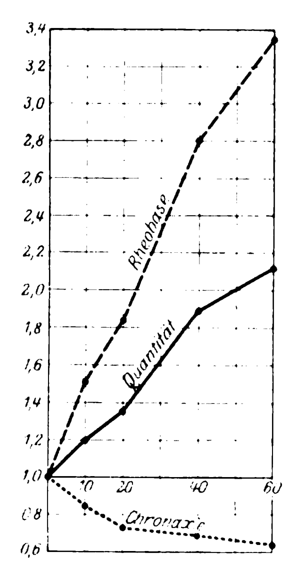


Abb. 5. Durchschnittswerte aus 6 Versuchen für Rheobase, Chronaxie und Quantität. Dauer der Einwirkung 10, 20, 40 und 60 Min. der Lösung 3 (2 ccm isot. $CaCl_2$ + 8 ccm Ringer). Ausgangswerte = 1,0 gesetzt.

Der Umschlag von der spezifischen in die rein toxische Wirkung geht anscheinend sehr langsam vor sich und läßt sich daher aus unseren Parametern schwer erkennen; mitunter schien es, daß vor Eintritt der völligen Unerregbarkeit eine Erregbarkeitssteigerung für die Menge des eben reizenden Stromes sich einstellte. Eine Reversibilität der Ca-Wirkung ließ sich nicht erreichen; entweder es blieb der einmal vergiftete Nerv trotz Auswaschens mit Ringerlösung dauernd unerregbar oder, wenn ein Effekt zu erzielen war, waren die Schwellenwerte höher als vor der Ca-Wirkung.

Im Anschluß an diese Versuche wurde in gleicher Weise wie bei den K-Versuchen die Beziehung zwischen der Rheobase und der Quantität untersucht. Bei einem Ringernerven wurde zunächst die Chronaxie in üblicher Weise ermittelt und dann die Zeitreizbestimmung unter steter Erhöhung der doppelten Rheobase bis zur zehnfachen Rheobase wiederholt. Die Quantitätskurve fiel dabei zunächst bis ungefähr um die Hälfte ihres Wertes ab, um dann annähernd die gleiche zu bleiben. Die Verhältnisse lagen also auch hier nahezu umgekehrt wie beim Ca-Nerven.

Wenn wir nun den Einfluß der K- und Ca-Ionen auf die Erregbarkeit des Froschnerven miteinander vergleichen, so zeigt sich zunächst, daß das Kalium ein viel stärkeres Nervengift darstellt als das Calcium, da bei gleicher Konzentration und Einwirkungsdauer beider Lösungen

die Giftwirkung des Kaliums viel eher und stärker in Erscheinung tritt als die des Calciums. Bemerkenswert erscheint mir dabei die Tatsache, daß bei den Lösungen 1 (mit 1 ccm Ringerlösung und 9 ccm KCl- bzw. $CaCl_2$-Lösung), die also je $^1/_{10}$ des Na-Gehalts der Ringerlösung gleich 0,07 Proz. enthalten, die Giftwirkung beider Lösungen gleichfalls nicht dieselbe ist, sondern auch hier das Kalium das Calcium bei weitem übertrifft. Hieraus geht meines Erachtens hervor, daß der geringe Na-Gehalt dieser Lösung, dem *Höber*[1]) für die Erregbarkeitsverminderung am Muskel große Bedeutung beimißt, beim Nerven jedenfalls nicht das allein Ausschlaggebende sein kann, denn sonst müßte die erwähnte $CaCl_2$-Lösung infolge ihres Kochsalzmangels den Nerven in ähnlicher Weise schädigen wie die entsprechende KCl-Lösung. Beim Nerven bestehen offensichtlich andere Verhältnisse wie beim Muskel; dafür sprechen u. a. gelegentliche Beobachtungen von *Overton*[2]) und noch nicht veröffentlichte Versuche von *H. Rosenberg* und *U. Tanaka*, aus denen hervorgeht, daß der Nerv in einem Gemisch aus 9 Teilen isotonischer Traubenzucker- und 1 Teil Ringerlösung für den Einzelinduktionsschlag viele Stunden gleichmäßig erregbar bleibt und selbst in reiner isotonischer Zuckerlösung häufig zunächst nur geringe Erregbarkeitsveränderungen aufweist [vgl. auch *H. Rösenberg* und *P. Henke*[3]) ferner *H. Ishikawa*[4])]. Andererseits ist es beim vergifteten Kalimuskel fast stets möglich, die K-Wirkung vollständig rückgängig zu machen, so daß der Nerv wieder genau so leicht erregbar wird, wie vor der K-Einwirkung, während das bei Ca überhaupt nicht oder nur sehr unvollkommen gelingt (s. auch die Angaben bei *Jahn* in der eingangs erwähnten Arbeit). Eine Erklärung für dieses verschiedene Verhalten der K- und Ca-Ionen läßt sich möglicherweise darin sehen, daß Ca den Kolloidzustand des Nerven stärker schädigt als Kalium und so die einmal geschwundene Erregbarkeit bei Calcium überhaupt nicht oder viel schwerer zurückzugewinnen ist als beim Kalium. Aber ein streng quantitativer Vergleich ist deswegen undurchführbar, weil man berücksichtigen muß, daß die Ca-Wirkung auf den Nerven viel länger und intensiver bei unseren Versuchen stattgefunden hat als beim Kalium.

Was nun die Unterschiede der *spezifischen* Wirkung von K und Ca auf den Nerven anbetrifft, so geht aus den angeführten Versuchen zunächst hervor, daß K die Erregbarkeit des Nerven gegenüber dem *konstanten* Strome steigert, Ca sie vermindert (wobei allerdings die

[1]) *Höber*, l. c., S. 629.
[2]) *Overton*, Pflügers Arch. **92**, 346, 1902.
[3]) *H. Rosenberg* und *P. Henke*, Cremers Beiträge **2**, 139, 1923.
[4]) *H. Ishikawa*, Zeitschr. f. allg. Physiol. **13**, 225, 1912.

Wirkung des Ca in bezug auf die Größe der Veränderung stärker zu sein scheint als die des K). In dieser Hinsicht sind die beiden Ionen in Übereinstimmung mit sonstigen Beobachtungen als Antagonisten anzusprechen. Auch die Wirkung auf den Zeitreiz, speziell auf die *Chronaxie*, ist bis zu einem gewissen Grade entgegengesetzter Natur: bei Kalium ist im allgemeinen eine Verminderung der Erregbarkeit, beim Calcium stets eine Erhöhung der Erregbarkeit nachweisbar, die sich bei Kalium im Ansteigen, bei Calcium im Absinken der Chronaxiewerte kundgibt. Die *Quantität* als Produkt der doppelten Rheobase (Intensität) und der Chronaxie folgt in beiden Versuchsreihen der Rheobase, d. h. die prozentualen Veränderungen der Rheobase sind größer als die der Chronaxie und bestimmen damit die Quantitätsveränderungen. Daß auch hier K und Ca sich antagonistisch verhalten, geht aus meinen Ausführungen wohl ohne weiteres hervor.

Zu diskutieren bliebe schließlich noch die Frage, ob zur Beurteilung der Erregbarkeitsveränderungen eines Nerven bei verschiedenem äußeren Milieu eine der angegebenen Reizarten ausreicht, oder ob sowohl die Intensität, die Dauer des reizenden Stromes und seine Menge für den Ausfall des Versuchs berücksichtigt werden muß. Beispielsweise könnte man bei unseren Versuchen mit KCl-Lösungen (vgl. Abb. 3) sagen, daß dort gewisse Feinheiten an der Chronaxiekurve herauskommen, die die Rheobasekurve vermissen läßt. Eine eingehende kritische Besprechung dieser Verhältnisse würde hier zu weit führen und soll daher einer späteren Mitteilung vorbehalten werden; ich möchte aber schon an dieser Stelle darauf hinweisen, daß vielleicht mit der Bestimmung des *Cremer*schen Ampere-Coulombquotienten, der als reziproker Wert gleichfalls einen Zeitwert[1]) darstellt (reduzierte Reizzeit), diese prinzipiell wichtigen Fragen der Lösung näher gebracht werden können.

[1]) *Blumenfeldt*, l. c., S. 94; Verh. d. 34. Kongr. d. deutsch. Ges. f. inn. Med. Wiesbaden 1922.

Nephelometrische Untersuchungen über Glykogenabbau durch Speicheldiastase.

(Vorläufige Mitteilung.)

Von

J. Paechtner.

(Aus dem physiologischen Institut der Tierärztlichen Hochschule zu Berlin.)

(Eingegangen am 31. Januar 1925.)

Die auf Veranlassung von *M. Cremer* im Oktober 1913 von *Pfeiffer* begonnenen, weiterhin von *Folger* und dem Verfasser fortgesetzten und nach verschiedenen Richtungen ausgedehnten Untersuchungen dienten zunächst dem Zwecke, die Anwendung der Nephelometrie für eine quantitative Verfolgung der Diastasewirkung auf Glykogenlösungen zu prüfen. Maßgeblich hierfür war die Überlegung, daß sich die im Laufe der hydrolytischen Spaltung des Glykogens durch die Einwirkung der Diastase erfolgende Aufhellung voraussichtlich als ein brauchbarer Maßstab dieser Wirkung anwenden ließe.

Zur Ausführung der Versuche diente ein Doppel-Tauchkolorimeter der Firma Schmidt & Haensch, Berlin S., großes Modell, mit zwei homologen Tauchzylindersystemen (System I und II), meßbare Schichthöhe 230 mm — auf dessen nähere Beschreibung hier verzichtet werden soll.

In orientierenden *Vorversuchen* wurde zunächst die Eignung und Zuverlässigkeit des Instruments für eine quantitative Bewertung von Glykogenkonzentrationen überhaupt geprüft; diese bestand tatsächlich in durchaus befriedigender Weise. So ergab ein Eichversuch (16. Dezember 1913), bei welchem beide Zylinder des Tauchkolorimeters mit derselben 0,5 proz. wässerigen Glykogenlösung beschickt waren, folgende Werte [wobei die *fetten* Zahlen jeweils die an der Skala direkt *eingestellten* Höhenmarken des einen Kolorimetersystems, die nicht fetten Zahlen die *optisch darauf eingestellten* Höhenwerte des anderen (in Millimetern) bedeuten]:

Höhe der Glykogensäule:

links (System I)	**100,0**	90,0	50,0
rechts („ II)	100,0	**90,0**	**50,0**

Entsprechend verlief eine Versuchsreihe, bei welcher zunächst das eine Kolorimetersystem gefühlsmäßig fixiert (fette Zahlen) und anschließend das andere optisch darauf eingestellt wurde:

Höhe der Glykogensäule:

links (System I)	88,7	148,3	**49,8**	**8,0**
rechts („ II)	**88,5**	**148,8**	49,6	7,8

Diese Ergebnisse wurden in einer größeren Reihe weiterer Eichungsproben bestätigt, bei welchen beiderseits sowohl Lösungen gleicher als auch verschiedener Konzentration Verwendung fanden.

Die *eigentlichen Untersuchungen* erfolgten nun in der Weise, daß jeweils beide Zylindersysteme des Kolorimeters (hier Nephelometers) mit angemessenen Mengen Glykogenlösung — in Konzentrationen von 0,25 bis 1,0 Proz. — beschickt und auf eine bestimmte Ausgangshöhe mit beiderseits gleicher Helligkeit eingestellt wurden. Die eine Teilprobe wurde alsdann mit einer bekannten Menge wasserklaren Speichels, die andere mit einer gleichen Menge indifferenter Verdünnungsflüssigkeit versetzt, jede natürlich unter sorgfältiger Durchmischung. Der Verlauf der in der fermentierten Teilprobe einsetzenden Aufhellung wurde in regelmäßigen Zeitabständen (anfangs meist alle 5 Minuten, dann mit längeren Intervallen) durch Senkung der Schichthöhe in dem nicht fermentierten Kolorimetersystem bis zur Wiederherstellung gleicher Helligkeit verfolgt. Das geschah im wesentlichen ohne Schwierigkeit; erst gegen Ende des Prozesses traten gewisse chromatische Abweichungen auf, welche die Einstellung erschwerten. Immerhin gelang diese im ganzen *recht befriedigend*, wie die aus der nephelometrisch bestimmten Aufhellung ermittelten *Reaktionskonstanten* ($k = \frac{1}{t} \cdot \log \frac{a}{a - x}$, worin t die Beobachtungszeit, a den totalen Schichthöhenwert der Aufhellung bis zum Ende der Beobachtungszeit, x den „Schichthöhenwert" für die einzelne Zwischenablesung in Millimetern bedeuten) zeigen. Einige Beispiele aus den vorliegenden Versuchsprotokollen mögen dies belegen:

Versuch 11 (Dr. *Pfeiffer*). 14. Januar 1914.

Menschenspeichel, filtriert, unter Toluol aufbewahrt, 2 Tage alt. Der Speichel war in der voraufgegangenen Nacht gefroren und zum Versuch vorsichtig aufgetaut worden.

Versuchsanordnung:

Beide Zylinder (System I und System II) des Kolorimeters werden mit je 100 ccm 0,5 proz. Glykogenlösung (mit n/10 NaCl-Lösung hergestellt) beschickt; hierauf wird Zylinder II mit 10 ccm n/10 NaCl-Lösung, Zylinder I mit 10 ccm Speichel versetzt und der Inhalt eines jeden Zylinders gut durchmischt.

Die Zugabe des Speichels erfolgt 9 Uhr 49 Minuten vormittags; unmittelbar anschließend Einstellung beider Systeme auf gleiche Helligkeit und erste Ablesung an System II, Skalenwert 95,5.

Den weiteren Verlauf der Ablesungen zeigt die folgende Tabelle.

Zeit	Einstellung		Hieraus Werte für			
	System I	System II	t	x	a	k
9h49′	95,0	**95,5**	—	—	(73,0)	—
9 55	95,0	79,7	6	15,8	—	0,018
10 00	95,0	70,2	11	25,3	—	0,017
10 05	95,0	62,5	16	33,0	—	0,016
10 10	95,0	56,7	21	38,8	—	0,016
10 15	95,0	51,4	26	44,1	—	0,015
10 20	95,0	47,5	31	48,0	—	0,015
10 25	95,0	44,0	36	51,5	—	0,015
10 30	95,0	42,2	41	53,3	—	0,014
10 40	95,0	37,3	51	58,2	—	0,014
10 50	95,0	34,0	61	61,5	—	0,013
11 00	95,0	31,9	71	63,6	—	0,013
11 15	95,0	28,7	86	66,8	—	0,012
11 30	95,0	25,7	101	69,8	—	0,013
11 45	95,0	23,1	116	72,4	—	0,018
12 00	95,0	**22,5**	131	—	73,0	∞

Versuch 27 (Dr. *Folger*). 8. Mai 1914.

Menschenspeichel, 8 Tage alt, unter Toluol aufbewahrt, filtriert.

Versuchsanordnung:

Beide Zylinder des Kolorimeters werden um 4 Uhr nachmittags mit je 50 ccm 0,25 proz. wässeriger Glykogenlösung beschickt; um 4 Uhr 2 Minuten wird Zylinder II mit 5 ccm destillierten Wassers, Zylinder I mit 5 ccm Speichel versetzt und der Inhalt eines jeden Zylinders gut durchmischt.

Um 4 Uhr 3 Minuten erfolgt die Einstellung der Tauchrohre auf gleiche Helligkeit, anschließend die erste Ablesung: System I 45,0, System II 46,6. Die weiteren Einstellungen und Ablesungen geschehen wieder an System II; das Ergebnis ist in folgender Tabelle verzeichnet:

Zeit	Einstellung		Hieraus Werte für			
	System I	System II	t	x	a	k
4h03′	**45,0**	**46,6**	—	—	(34,7)	—
4 10	45,0	38,3	7	8,3	—	0,017
4 15	45,0	33,1	12	13,5	—	0,018
4 20	45,0	29,1	17	17,5	—	0,018
4 25	45,0	25,0	22	21,6	—	0,019
4 30	45,0	21,6	27	25,0	—	0,021
4 35	45,0	20,8	32	25,8	—	0,018
4 40	45,0	18,0	37	28,6	—	0,019
4 45	45,0	16,6	42	30,0	—	0,020
4 50	45,0	16,0	47	30,6	—	0,020
4 55	45,0	15,2	52	31,4	—	0,020
5 00	45,0	14,4	57	32,2	—	0,020
5 05	45,0	14,0	62	32,6	—	0,020
5 10	45,0	13,3	67	33,3	—	0,020
5 15	45,0	12,8	72	33,8	—	0,020
5 20	45,0	11,9	77	—	34,7	∞

Versuch 30 (Dr. *Paechtner*). 15. Januar 1915.

Menschenspeichel, eigener, 1 Tag alt, unter Toluol aufbewahrt, wasserklar filtriert.

Versuchsanordnung:

Beide Zylinder sind zunächst noch vom vorigen Versuch beschickt, und zwar Zylinder I mit hydrolysierter (aufgehellter) 0,5proz. wässeriger Glykogenlösung, Zylinder II mit unveränderter 0,5proz. wässeriger Glykogenlösung. Zylinder I wird um 11 Uhr 30 Minuten entleert, sorgfältig gespült, getrocknet und blank gerieben, dann mit 50 ccm 0,5proz. wässeriger Glykogenlösung frisch beschickt. Zylinder II behält die bisherige Füllung und wird nur gut durchmischt.

Um 12 Uhr 5 Minuten wird Zylinder I auf 40,0 eingestellt; anschließend Probeeinstellung von Zylinder II: **39,9.** Zum Versuch wird Zylinder I mit 50 ccm destillierten Wassers (0,25proz. wässerige Glykogenlösung!) und darauf um 12 Uhr 24 Minuten mit 5 ccm Speichelfiltrat versetzt. Nach gründlicher Durchmischung wird Zylinder I auf 75,0 eingestellt; die optische Einstellung von Zylinder II ergibt 36,2. Der weitere Verlauf des Versuchs ist nachstehend tabelliert:

Zeit	Temp. °C	Einstellung		Hieraus Werte für			
		System I	System II	t	x	a	k
12h25′	21,2	75,0	36,2	—	—	(25,0)	—
12 35	21,3	75,0	26,0	10	10,2	—	0,023
12 45	21,3	75,0	19,2	20	17,0	—	0,025
12 55	21,3	75,0	15,4	30	20,8	—	0,026
1 05	21,3	75,0	14,3	40	21,9	—	0,023
1 15	21,3	75,0	13,2	50	23,0	—	0,022
1 25	21,4	75,0	11,2	60	—	25,0	∞

Diese von verschiedenen Beobachtern gewonnenen Ergebnisse lassen erkennen, daß die von *M. Cremer* angeregte Methode zur feineren Beobachtung der Glykogenhydrolyse durch Speicheldiastase für den vorliegenden Zweck wohl geeignet ist; ja sie zeigen — zunächst in relativen Wertausdrücken —, wie dieser Vorgang des Glykogenabbaues offenbar unter dem Bilde einer sogenannten monomolekularen Reaktion verläuft. Sie finden in den übrigen homologen Versuchen, deren Darlegung für die ausführlichen Veröffentlichungen der Arbeit vorbehalten bleibt, ihre Bestätigung.

So taugt also diese Methode zunächst recht gut für das Studium der hydrolytischen Glykogenspaltung an sich. Ferner erwies sie sich auch als gut brauchbar für die Erkennung und Verfolgung der Wirkung veränderter Versuchsbedingungen, so z. B. durch Variation der Konzentration, der Temperatur oder auch der aktuellen Reaktion des Reaktionsgemisches. Für den letztgenannten Fall mag der folgende Versuch als Beispiel dienen, welcher die beschleunigende Wirkung einer schwachen Ansäuerung auf den Verlauf der diastatischen Glykogenhydrolyse zeigt.

Versuch 42 (*Paechtner*). 19. März 1915.

Menschenspeichel, eigener, 7 Wochen unter Toluol aufbewahrt, vor dem Versuch wasserklar zentrifugiert. (Der Speichel wurde nach seiner Gewinnung 15 Minuten bei 2400 bis 3000 Touren zentrifugiert, dann mit gleichem Volumen physiologischer Kochsalzlösung vermengt, wasserklar filtriert und mit Toluol überschichtet.)

Um 4 Uhr 30 Minuten werden beide Zylinder des Kolorimeters mit je 100 ccm 0,5proz. wässeriger Glykogenkochsalzlösung (0,5 Proz. Glykogen in n/10 NaCl) beschickt. Eine Probeeinstellung ergibt in beiden Systemen Skalengrad 75,0.

Zylinder I erhält um 4 Uhr 40 Minuten 5 ccm physiologische Kochsalzlösung; System I wird nach sorgfältiger Durchmischung auf 75,0 eingestellt. Zylinder II wird um 4 Uhr 45 Minuten mit 5 ccm des wasserklaren Speichelfiltrats versetzt und gut durchmischt; Einstellung von System II erfolgt gleichfalls auf 75,0.

Im Verlauf des Versuchs wird um 6 Uhr 5 Minuten beiden Zylindern je 1 ccm wässerige *Milchsäurelösung* (1 : 20 aq) zugegeben und nach schleuniger Durchmischung die Beobachtung fortgesetzt.

Das Ergebnis ist wie folgt:

Zeit	Temp. °C	Einstellung		Hieraus Werte für			
		System I	System II	*t*	*x*	*a*	*k*
5h45'	19,5	75,0	75,0	—	—	54,7	—
5 50	19,6	75,0	71,7	5	3,3	—	0,005
5 55	19,6	75,0	67,5	10	7,5	—	0,006
6 00	19,7	75,0	65,0	15	10,9	—	0,006
6 05 *)	19,6	75,0	63,2	20	11,8	—	0,005
6 10	19,6	75,0	31,4	25	43,6	—	0,028
6 15	19,6	75,0	22,3	30	52,7	—	0,047
6 20	19,7	75,0	20,3	35	—	54,7	∞

*) Unmittelbar nach dieser Ablesung erfolgt die Zugabe von je 1,0 ccm Milchsäurelösung und anschließende Durchmischung des Inhalts beider Systeme.

Die katalysierende Wirkung des Säurezusatzes war schon durch bloße Beobachtung der rapide fortschreitenden Aufhellung erkennbar; sie prägt sich in der sprunghaften Erhöhung der Reaktionskonstante unverkennbar aus und findet demnach in der angewandten Methode einen deutlich definierbaren Ausdruck; dieses Ergebnis wird durch weitere Versuche bestätigt.

Die vorliegenden Untersuchungen erstreckten sich im übrigen noch auf allerlei andere Fragestellungen, so z. B. auf die Abhängigkeit des Reaktionsverlaufs von der c. p. angewandten Speichelmenge, den Einfluß des Alterns und konservierender Zusätze, auf vergleichsweise Bestimmungen mit Speichel verschiedener Tiergattungen, besonders vom Schweine und von herbivoren Haussäugern u. a. m. Hierüber soll gleichfalls noch eingehend berichtet werden.

Vorläufig sei das wesentliche Ergebnis dieser vor 11 Jahren begonnenen und seitdem mit verschiedenen Unterbrechungen fortgesetzten Studien dahin zusammengefaßt: *Die angewandte nephelometrische Methode nach M. Cremer ist wohlgeeignet zur quantitativen Beurteilung von Glykogenkonzentrationen, wie auch zur quantitativen Verfolgung der Glykogenhydrolyse durch Speicheldiastase unter verschiedenen Wirkungsbedingungen: Insbesondere hat sich auch das verwendete Instrument (Tauchkolorimeter) für diesen Zweck gut bewährt.*

Stickstoff, Schwefel und Formol-N bei Verfütterung von Aminosäuren.

Von

R. W. Seuffert. T. Ito und **T. Yokoyama.**

(Aus dem physiologischen Institut der Tierärztlichen Hochschule Berlin.)

(Eingegangen am 31. Januar 1925.)

Die früheren Versuche von *Seuffert* und *Marks* (1) (2) über die Beeinflussung des Eiweißzerfallwertes haben eine deutliche Verminderung des vom Körper stammenden Stickstoffs, also eine Herabsetzung des Stickstoffzerfallwertes als Folge einer Verfütterung eines Gemisches einzelner einfacher Aminosäuren ergeben. Diese Verminderung des Zerfallwertes trat sowohl bei kalorisch nicht genügendem, stickstofffreiem Grundfutter ein, wie auch besonders in dem Falle, wenn der einfache Kalorienbedarf des Tieres durch die stickstofffreie Nahrung gedeckt war.

Ein gleichsinniges Absinken des Schwefelwertes in der Ausscheidung konnte zwar beobachtet werden, doch war es bisher nicht möglich, in jedem Falle eine quantitative Übereinstimmung der Schwefel- und Stickstoffwerte in dem Sinne zu erhalten, daß die Verminderung des Eiweißzerfalls, berechnet aus der Schwefelersparnis, immer denselben Wert, der sich aus der Stickstoffersparnis errechnen ließ, ergab.

Immerhin bestand die Möglichkeit, daß durch Wiederholung dieser Versuche diese Divergenz noch behoben werden konnte. Zu diesem Zwecke wurde nun von einem von uns (*Yokoyama*) eine neue Versuchsreihe mit der bisher üblichen Versuchsanordnung angestellt.

Eine Hündin, die schon zu den früheren Versuchen gedient hatte, wurde zunächst während 12 Tagen durch Verabreichung eines N-freien Grundfutters, bestehend aus 50 g Sago, 50 g Fett und 50 g Zucker vorbereitet und erhielt dann während 7 Tagen ein einfaches Aminosäuregemisch, bestehend aus: 13 g Alanin, 6 g Leucin, 6 g Tyrosin, 6 g Glutaminsäure und 2 g Tryptophan mit insgesamt 3,67 g N und 0,053 g S (der S war als Verunreinigung, vielleicht als Cystin im Tryptophan enthalten).

Es folgte nunmehr eine siebentägige Periode mit dem Grundfutter und anschließend eine fünftägige Periode mit so viel Casein (26 g) als dem mit den Aminosäuren verfütterten N entsprach. Eine siebentägige Grund-

futterperiode folgte; dann wurden zum Grundfutter weitere 50 g Zucker und 25 g Fett zugelegt und diese Fütterung 11 Tage durchgeführt. Eine neue Aminosäureperiode sollte folgen, doch versagte der Hund dann die Futteraufnahme.

In dieser plötzlichen Verweigerung der Futteraufnahme liegt, wie früher schon betont, die Hauptschwierigkeit der Durchführung dieser Versuche. Versagt das Tier einmal die Futteraufnahme, so ist der Hund auch meist nicht durch eingeschobene Hungerperioden zur Wiederaufnahme des Futters zu bringen.

Bei dem nun neu eingestellten zweiten Hunde wurde das Grundfutter in der Weise verändert, daß 250 g Sago, 40 g Zucker und nur 20 g Fett gereicht wurden, da wir vermuteten, daß der große Fettgehalt und der stark süße Geschmack dem Hunde auf die Dauer unangenehm sei.

Einer Grundfuttervorperiode von 10 Tagen folgten 3 Tage mit demselben Aminosäuregemisch wie beim ersten Versuch. Dann wurde eine 14tägige N-freie Periode und anschließend nochmals 6 Tage mit Aminosäuren angefügt.

Wie schon in der ersten Abhandlung betont war, war bei den bisherigen Versuchen der Einfluß des Fehlens von Vitaminen in der Nahrung nicht berücksichtigt. Es bestand nun die Absicht, im weiteren Verlauf dieses Versuchs zu untersuchen, ob die Beigabe von Vitaminträgern das bisherige Ergebnis irgendwie beeinflussen könnte. Als Vitaminträger waren Orangensaft, Butter und Lebertran ins Auge gefaßt, die dem Futter in entsprechender Menge zugesetzt werden sollten. Leider konnte aber diese Absicht in dieser Versuchsreihe nicht durchgeführt werden, da der Versuchshund nach dem sechsten Aminosäuretage wiederum die Nahrungsaufnahme verweigerte. Weitere neue Versuche konnten bisher noch nicht angestellt werden, da der eine von uns (*Yokoyama*) nach Japan zurückreisen mußte.

Im folgenden seien also nur zur weiteren Ergänzung der bisherigen Ergebnisse die Bilanzberechnungen nach Stickstoff und Schwefel mitgeteilt.

Wie in den früheren Versuchen von *Seuffert* und *Marks*, ist die Beeinflussung des Stickstoffzerfallwertes durch die Aminosäuren in beiden Versuchen (*Yokoyama*, Tabelle I) eine nicht unerhebliche. Der vom Körper stammende Stickstoff stellt sich im ersten Versuch in den stickstofffreien Perioden, soweit diese zur Berechnung herangezogen wurden, sehr konstant auf 2,11 pro die und sinkt in der siebentägigen Aminosäurenperiode im Durchschnitt auf 1,6 g. Es sind also, was den Stickstoff betrifft, rund 20 Proz. N weniger vom Körper zur Ausscheidung gelangt.

Im zweiten Versuch ergibt die Bilanz in der ersten Aminosäureperiode 0,63 g N vom Körper, gegenüber dem Mittelwert 1,3 der Vor- und Nachperiode, was etwa 50 Proz. Ersparnis von Körpereiweiß bedeuten würde.

In der zweiten Hälfte der folgenden stickstofffreien Periode sinkt der Stickstoff, der vom Körper in die Ausscheidungen geht, auf 0,726 g pro Tag, ein Abfall, wie wir ihn ähnlich früher auch beobachtet haben.

Auch die zum Schluß angesetzte zweite Aminosäureperiode von 6 Tagen läßt eine gewisse Verminderung des vom Körper stammenden Stickstoffs erkennen, doch erscheint die Berechnung unsicher, weil die eigentlich erforderliche stickstofffreie Nachperiode fehlt.

Zu dem Ergebnis der ersten Aminosäureperiode dieses Versuchs ist noch zu bemerken, daß auch hier die Kürze der Periode (3 Tage) eine gewisse Unsicherheit in der Beurteilung des Ergebnisses zuläßt, während bei der zweiten Periode, die infolge der Verweigerung der Futterannahme abgebrochen werden mußte, vielleicht schon eine Störung im Gesamtbefinden des Versuchstieres eingetreten sein kann. Immerhin scheint die Ersparnis von Körpereiweiß, soweit sie sich aus der Vorperiode allein berechnen läßt, durchaus mit den bisherigen Ergebnissen übereinzustimmen.

Bei der Kritik der Schwefelwerte begegnen wir denselben Schwierigkeiten wie bei den früher publizierten Versuchen. Im Versuch 1 ist eine Ersparnis an Körperschwefel nicht zu ersehen, im Versuch 2, I. ist sie zum mindesten undeutlich, während sie im Versuch 2, II. mit dem Stickstoff parallel zu gehen scheint.

Aus diesem Grunde versuchten wir auf einem anderen Wege weitere Klärung zu erhalten, und zwar zogen wir auch noch den mit *Marks* (2) ausgeführten Versuch in den Kreis unserer Untersuchungen. Wir hofften durch Verfolgung des mit Formol titrierbaren Stickstoffs im Harn noch weitere Anhaltspunkte zur Beurteilung der Ergebnisse zu erhalten. Die Verfolgung dieser Fragestellung übernahm der andere von uns (*Ito*).

In üblicher Weise wurden die Mischharne der einzelnen Versuchsperioden nach der verbesserten Methode von *Sörensen* (3) zur Untersuchung gebracht.

Überblickt man die erhaltenen Werte, so ersieht man zuerst, daß sich die Ausscheidung des mit Formol titrierbaren Stickstoffs durchweg in äußerst geringen Werten bewegt. Dies ist an sich nicht verwunderlich. Durch die abundante stickstofffreie Ernährung, die das Grundfutter der Versuchstiere während der ganzen Dauer der Versuche bildete, war ja beabsichtigt, den Stickstoffumsatz des Tieres auf ein Minimum, den Zerfallswert herabzusetzen. Daß damit auch die Ausscheidung von Formolstickstoff minimale Werte annehmen muß, erscheint als

selbstverständlich. Ebenso selbstverständlich ist die Tatsache, daß in den Perioden, in denen die Aminosäuren gegeben wurden, die Ausfuhr von Formolstickstoff steigt. Die Steigerung beträgt in den zwei Perioden vom Versuch *Seuffert-Marks* 100 und 200 Proz., wenn man sie mit der Ausscheidung der Vor- und Nachtage relativ vergleicht. (0,03 im Mittel der Vor- und Nachperiode gegen 0,06 der ersten Aminosäureperiode, sowie 0,016 als Mittel der Vor- und Nachperiode und 0,05 in der zweiten Aminosäureperiode des angeführten Versuchs.)

Ähnlich liegen die Ergebnisse im ersten Versuch *Yokoyamas*. Die absolute Menge Formolstickstoff steigt von 0,02 der Vor- und Nachperiode auf 0,05 in der Aminosäureperiode.

Bezogen auf den Stickstoff der Nahrung, ist die Steigerung des Formolstickstoffs aber nur eine sehr geringe. Bei der Einfuhr von 5,7 g Stickstoff in den Versuchen *Seuffert-Marks* wurden nur 0,03 g Formolstickstoff im Harne gefunden, was prozentual ½ Proz. der eingeführten Stickstoffmenge beträgt. Ähnlich liegen die Ergebnisse der zweiten Aminosäureperiode im Versuch *Seuffert-Marks* und im Versuch 1 *Yokoyamas*.

Wurde dagegen ein natürliches Eiweiß, Milfix oder Casein, an Stelle der Aminosäuren gereicht, so steigt die Ausscheidung von mit Formol titrierbarem Stickstoff im Harne nur wenig oder gar nicht gegenüber den angrenzenden Perioden an. In diesen Perioden befand sich das Tier auch im Stickstoffgleichgewicht oder im Stickstoffansatz.

Stellt man den mit Formol titrierbaren Stickstoff in Beziehung zum Gesamt- (Kjeldahl-) Stickstoff, so ist das Verhältnis während aller Versuche ein sehr konstantes. Auf einen Teil Formolstickstoff wurden bei unseren Versuchsbedingungen rund 100 Teile Gesamtstickstoff ausgeschieden. Dieses Verhältnis ändert sich nicht in den Aminosäureperioden und ebensowenig in den Perioden, in denen das Versuchstier Milfix oder Casein erhielt.

Nur im Versuch 2 *Yokoyamas* waren diese Verhältniswerte nicht unerheblich verändert. Hier stellt sich die Ausscheidung von Formolstickstoff zum Gesamtstickstoff wie 1 : 25. Es wurde also viermal mehr Formolstickstoff, bezogen auf den Gesamtstickstoff, ausgeschieden als in den übrigen Versuchen.

Diese Versuchsreihe fällt, wie oben schon hervorgehoben, insofern aus dem Rahmen unserer bisherigen Versuche heraus, als es uns nicht gelungen ist, der zweiten Aminosäurenperiode eine weitere Grundfutterperiode anzufügen. Infolgedessen muß man bei der Kritik eine besondere Vorsicht walten lassen. Ob sich hier eine geringere, individuell begründete Eignung des Versuchstieres zur Erklärung heranziehen läßt, ob eine Schädigung des Tieres, wie oben angedeutet, stattgefunden habe oder welche Gründe sonst dafür zu bringen sind, kann nur durch weitere Versuche geklärt werden.

Die bisherigen Ergebnisse decken sich im allgemeinen auch mit früheren Befunden anderer Autoren, die die Ausscheidung von nach *Henriques* und *Sörensen* titrierbarem Stickstoff nach Verfütterung einzelner Aminosäuren verfolgt haben[1]; wir verweisen namentlich nur auf die Arbeiten von *Abderhalden* und *Markwalder* (4), ferner auf *Abderhalden, Furno, Goebel* und *Strübel* (5).

Ferner sei noch auf eine Angabe *Signorellis* (6) und *D. Fuchs* (7) hingewiesen, die die Konstanz des Verhältnisses zwischen Formolstickstoff und Gesamtstickstoff schon betont haben.

Fassen wir die Ergebnisse zusammen, so konnte festgestellt werden:

1. Die früheren Ergebnisse von *Seuffert* und *Marks* hinsichtlich der Beeinflussung des Zerfallswertes des Eiweißes werden durch neue Versuche bestätigt. Nur ein Versuch (*Y*; 2, 1.) fällt aus noch unbekannten Gründen aus dem Rahmen der bisherigen Versuche heraus.

2. Bei der Verfolgung der Schwefelwerte ergab sich dasselbe Bild wie bei den früher mitgeteilten Versuchen. Eine größere Übereinstimmung zwischen Stickstoff- und Schwefelbilanz wurde nicht erzielt.

3. Die Verfolgung des mit Formol titrierbaren Stickstoffs ergab eine große Konstanz des Verhältnisses Gesamtstickstoff zu Formolstickstoff. Bei unseren Versuchsbedingungen lag der Wert mit geringen Schwankungen bei 100 : 1.

4. Dies Verhältnis wird weder durch Verfütterung von einfachen Aminosäuren noch durch natürliches Eiweiß wesentlich geändert. Auf die Ausnahme in einem Versuch (2, *Yokoyama*) sei nochmals ausdrücklich hingewiesen.

5. Die absolute Vermehrung des Formolstickstoffs im Harne durch die Aminosäuren ist bei diesen Versuchen immer nur sehr geringfügig. Sie beträgt nur etwa ½ bis 1 Proz. des in der Nahrung zugeführten Stickstoffs.

Diese letzte Beobachtung steht im guten Einklang mit einer Beobachtung aus dem *Abderhalden*schen Laboratorium (4) (5), wonach die Zugabe von stickstofffreien Stoffen (Zucker und Fett) die Verwertung von Aminosäure durch den Organismus begünstigt.

Literatur.

1) *Seuffert*, Zeitschr. f. Biol. **80**, 381, 1924. — 2) *Seuffert* und *Marks*, ebendaselbst **82**, 244, 1924. — 3) *Henriques* und *Sörensen*, H.-S. Zeitschr. f. physiol. Chem. **64**, 120, 1910. — 4) *Abderhalden* und *Markwalder*, ebendaselbst **72**, 63, 1911. — 5) *Abderhalden, Farno, Goebel* und *Strübel*, ebendaselbst **74**, 481, 1911. — 6) *Signorelli*, diese Zeitschr. **39**, 36, 1912. — 7) *D. Fuchs*, H.-S. Zeitschr. f. physiol. Chem. **69**, 491, 1910.

[1] Eine Literaturzusammenstellung hierhergehöriger Arbeiten findet sich bei *W. Blum*, Neue Versuche über Ausscheidung einiger Aminosäuren durch den Harn. Cremers Beitr. z. Physiol. **1**, S. 385.

Tabelle [illegible]

Nr. der Periode	Dauer der Periode Tage	Tägliche Nahrung (G. F.) und Zulagen	Gewicht des Tieres Anfang kg	Gewicht des Tieres Ende kg	Tägliche Einfuhr N	Tägliche Einfuhr S	N[illegible] pro Periode	Anfang	Ende
								Versu[illegible]	
I	13	G. F. I (50 S, 50 Z. 50 Fett)	16,15	14,55	—	—	10,54	2,79	2,2[illegible]
II	7	G. F. I + Aminosäuren	14,60	14,55	3,67	0,053	36,83	5,38	5,4[illegible]
III	7	G. F. I	14,55	14,40	—	—	14,77	3,11	1,91
IV	5	G. F. I + Casein	14,30	14,40	3,67	0,135	14,89	2,95	3,07
V	7	G. F. I	14,40	14,10	—	—	14,74	3,28	1,9[illegible]
VI	11	G. F. II (50 S, 100 Z., 75 F.)	14,00	14,00	—	—	19,03	1,64	1,94
								Versu[illegible]	
VII	10	G. F. III (250 S, 40 Z., 20 F.)	20,30	17,80	—	—	15,90[1])	3,26	3,84
VIIIa	3	G. F. III + Aminosäuren	17,50	17,50	3,67	0,042	16,83	5,20	5,60
VIIIb	1	G. F. III	17,50	—	—	—	3,64		
IXa	4	G. F. III	17,50	17,10	—	—	11,64	2,88	3,00
IXb	9	G. F. III	16,70	16,10	—	—	7,80[4])	1,80	1,91
X	6	G. F. III + Aminosäuren	15,90	15,30	3,67	0,042	29,71	4,89	4,92

[1]) Aus den letzten fünf Tagen der Periode. — [2]) —2,63 pro die. — [3]) Aus den letzten vier Tagen der Periode.

Tabelle II. Versuche [illegible]

Nr. der Periode	Dauer der Periode Tage	Tägliche Nahrung (G. F.) und Zulagen	Gewicht des Tieres Anfang kg	Gewicht des Tieres Ende kg	Einfuhr täglich N	Einfuhr täglich S	N[illegible] pro Periode	Anfang	Ende
0	4	Hunger	20,0	18,6	—	—	—		
I	8	G. F.	18,6	18,0	—	—	26,72	3,84	3,07
II	5	G. F. + Aminosäuren	17,8	17,5	5,87	0,045	37,30	6,87	7,61
IIIa	10	G. F.	17,4	16,7	—	—	29,39	4,16	2,2[illegible]
IIIb	9	G. F.	16,7	16,7	—	—	18,20	2,15	1,6[illegible]
IV	5	G. F. + Aminosäuren	16,5	16,5	5,87	0,045	31,25	5,17	6,40
V	6	G. F.	16,5	16,5	—	—	11,36	2,72	1,6[illegible]
VI	13	G. F + 36,7 g Milfix	16,6	17,2	1,60		19,65	1,46	1,6[illegible]
VII	9	G. F.	17,2	17,2	—	—	13,22	1,66	1,6[illegible]
VIII	4	G. F. + 123,5 g Milfix	17,3	17,4	5,30		8,32	1,96	2,02

G. F. = 150 g Sago, 50 g Zucker, 50 g Fett. Aminosäuren: 20 g Asparag[illegible]
Weitere Einzelheiten s. Zeitsch[illegible]

[1]) Aus Harn allein.

'okoyamas Versuche.

arn e Mittelwert	Formol-N im Harn pro Periode	Formol-N im Harn pro die	S im Harn pro Periode	S im Harn pro die	N-Bilanz pro Periode	N-Bilanz pro die	S-Bilanz pro Periode	S-Bilanz pro die	Gesamt-N : Formol-N
,11¹)	0,157	0,022			— 10,54	— 2,11	— 0,56¹)	— 0,11	95,9
.26	0,380	0,054	1,20	0,171	— 11,14	— 1,59	— 0,83	— 0,11	97,4
.11	0,171	0,024	— 0,83	0,119	— 14,77	— 2,11	— 0,83	— 0,11	87,9
.98	0,112	0,028	0,63	— 0,126	+ 3,44	+ 0,69	+ 0,08	+ 0,009	106,3
.11	0.126	0,021			— 14,74	— 2,11			100,4
78	—	—			— 19,03	— 1,78			—
30¹)	0,175	0,035	1,470	0,293	— 15,90	— 3,30	1,47	0,29	94,3
61	0,679	0,229	0,757	0,253	— 5,82	— 1,94²)	— 0,63	— 0,21³)	24,5
64	0,168	0,033			— 3,64	— 3,64			92,7
91			1,260	0,252	— 11,64	— 2,91	1,26	0,25	
95⁴)	0,063	0,021	0,726⁴)	0,182⁴)	— 7,80	— 1,95	— 0,72⁴)	— 0,18⁴)	92,9
95	1,127	0,187	0,976	0,163	— 7,69	— 1,28	— 0,72	— 0,12	26,4

·ei Harnen der Periode VIIIa und einem Harn der Periode VIIIb. — ⁴) Aus

uffert und *Marks.*

n ttel- ert	Formol-N im Harn pro Periode	Formol-N im Harn pro die	N im Kot Mittelwert pro die	S im Harn Mittelwert	S im Kot Mittelwert	Gesamtausfuhr täglich N	Gesamtausfuhr täglich S	Bilanz N	Bilanz S	Gesamt-N : Formol-N
34	0,305	0,038	0,10	0,280	0,040	3,44	0,320	3,44	— 0,320	87,8
46	0,289	0,060	0,11	0,157	0,038	7,57	0,195	— 1,70	— 0,150	124,3
94	0,280	0,028	0,11	0,200	0,040	3,05	0,240	— 3,05	— 0,240	105,0
99	0,133	0,015	0,19	0,110		2,28	0,110	— 2,28	— 0,110¹)	139,3
25	0,256	0,051		0,136		6,25¹)	0,136	— 0,38¹)	— 0,091¹)	122,5
39	0,103	0,017	0,08	0,130		1,97	0,133¹)	— 1,97	— 0,130¹)	111,2
51	0,205	0,016	0,19			1,70		— 0,10		96,2
17	0,150	0,016	0,09			1,54		— 1,54		91,8
98	0,088	0,021	0,51			2,59		+ 2,70		94,6

Leucin, 6,5 g Alanin, 3 g Tyrosin, 2 g Tryptophan, 3,5 g Glutaminsäure.
Biol. **82**, 244.

Über die physikochemischen Bedingungen der Erregungsleitung im Nerven.

I. Mitteilung:

Die Temperaturabhängigkeit der Leitungsgeschwindigkeit beim unverletzten lebenden Tier.

(Nebst vorläufiger Mitteilung über den Einfluß des osmotischen Druckes.)

Von

Hans Rosenberg und **Teiichiro Sugimoto**[1]).

(Aus dem physiologischen Institut der Tierärztlichen Hochschule Berlin.)

(Eingegangen am 31. Januar 1925.)

In den letzten Jahren sind von *Cremer*[2]) und von *Brömser*[3]) Formeln für die Geschwindigkeit der Erregungsleitung im Nerven angegeben worden.

Brömser geht von einer Differentialgleichung für die Fortpflanzung einer Konzentrationswelle in einer Lösung aus und findet als Wert für die Geschwindigkeit einer solchen Welle die Quadratwurzel aus dem Verhältnis des osmotischen Druckes der Lösung zum spezifischen Gewicht des Lösungsmittels. Seine Formel, die ihm mit seinen Nervenversuchen befriedigend übereinstimmende Zahlen liefert, enthält also nur physikalische Größen. *Cremer* gründet dagegen seine Ableitung, die er kürzlich ausführlich mitgeteilt hat[4]), auf die von ihm entwickelte Stromtheorie der Erregungsleitung[5]), durch die er ein wesentliches, in der ursprünglichen *Hermann*schen Anschauung gelegenes Hindernis beseitigt hatte. Da nach dieser Theorie die über den erregten Nerven laufende Negativitätswelle die Erregung von Punkt zu Punkt weiterträgt, müssen die für Entstehung und Fortpflanzung des Aktionsstroms maßgebenden Faktoren als physiologische

---

[1]) Über die Ergebnisse hat *T. Sugimoto* auf der 8. Tagung der Deutschen Physiologischen Gesellschaft in Tübingen 1923 kurz berichtet. Vgl. Ber. d. ges. Physiol. **21**, 499, 1924.

[2]) *M. Cremer*, Beitr. z. Physiol. **2**, 31, 1922; Ber. d. ges. Physiol. **2**, 166. 1920.

[3]) *Ph. Brömser*, Ber. d. ges. Physiol. **2**, 165, 1920; Zeitschr. f. Biol. **72**, 37, 1920.

[4]) *M. Cremer*, Proceed. of the XIth International Physiological Congress Edinburgh 1923.

[5]) *M. Cremer*, in Nagels Handb. d. Physiol. **4**, 929ff. Braunschweig 1909.

Konstanten in die Gleichung eingehen. Der Ermittlung dieser Konstanten sind im *Cremer*schen Laboratorium zahlreiche Untersuchungen gewidmet worden, auf die hier nur verwiesen werden kann[1]). Bei Einsetzung dieser experimentellen Daten in seine Formel erhielt *Cremer* für Frosch- und Anodontanerven Werte von der Größenordnung der bekannten Leitungsgeschwindigkeiten bei Zimmertemperatur.

Da die meisten der genannten Konstanten eine sehr wesentliche Abhängigkeit von der Temperatur — wenigstens innerhalb bestimmter Grenzen — zeigen, dürfte aus der *Cremer*schen Formel ein entsprechender Gang der Leitungsgeschwindigkeit mit der Temperatur zu folgern sein, während nach der *Brömser*schen Formel der Temperaturkoeffizient sehr gering ist.

Die Untersuchungen zahlreicher Forscher haben nun erwiesen, daß der Temperaturkoeffizient der Leitungsgeschwindigkeit des isolierten Nerven für 10°C im Mittel etwa 2 beträgt[2]). Charakteristisch ist, daß der Koeffizient bei niedrigeren Temperaturen größer ist (3 und mehr), bei höheren Wärmegraden aber auf 1,5 und darunter sinkt. Nur *G. Weiss*[3]) fand die Leitungsgeschwindigkeit zwischen 0 und 20°C bis auf geringe Abweichungen unverändert; sein Ergebnis beruht jedoch wahrscheinlich auf Versuchsfehlern[4]). Auch *Brömser*[5]) beobachtete zwischen 8 und 32°C im allgemeinen dieselben Werte wie die früheren Autoren. Die genauere Musterung und systematische Vervollständigung seiner Versuche führte ihn aber zu der Ansicht, daß die durch Aufenthalt in isotonischer Ringerlösung verschiedener Temperatur beeinflußte Nervenleitungsgeschwindigkeit mit der Dauer der Aufbewahrungszeit bei höheren Werten sinkt, bei tieferen steigt und dem durch seine Formel gegebenen Werte zustrebt. Diese Feststellung scheint zunächst allerdings nur für den Temperaturbereich von 15 bis 25°C zu gelten. *Brömser* vermutet, daß die von ihm beschriebenen Erscheinungen auf einer mit dem Temperaturwechsel erfolgenden Änderung des osmotischen Druckes im Nerven beruhen: bei Abkühlung Verminderung, bei Erwärmung Vermehrung des osmotischen Druckes, der sich allmählich mit dem in der Umgebung des Nerven herrschenden ausgleicht, und zwar um so rascher, je günstiger die Bedingungen für den Austausch liegen[6]). Da die auf 15°C abgekühlten Nerven sich dem für diese Temperatur geltenden Formelwert innerhalb ³⁄₄ Stunden vollständiger nähern als die auf 25°C erwärmten Nerven der entsprechenden Zahl, so erweitert *Brömser* seine Annahme dahin, daß der Ausgleich eines verminderten Nerveninnendrucks leichter erfolgt als der eines vermehrten. Die thermische Vorgeschichte

---

[1]) Vgl. besonders Cremers Beitr. z. Physiol. **1** und **2**, 1920—1924. Daselbst auch weitere Literatur.

[2]) Für die Literatur verweisen wir auf eine demnächst in den von *Oppenheimer* und *Pincussen* herausgegebenen Tabulae biologicae erscheinende Zusammenstellung von *H. Rosenberg* und *H. Fleischhacker*.

[3]) *G. Weiss*, C. r. de l'Acad. d. sc. **130**, 198, 1900; C. r. de la soc. de Biol. **52**, 51, 1900.

[4]) Vgl. *G. F. Nicolai*, Arch. f. d. ges. Physiol. **85**, 67f., 1900.

[5]) *Ph. Brömser*, Zeitschr. f. Biol. **73**, 19, 1921.

[6]) Der osmotische Druck der isotonischen Ringerlösung ändert sich nach *Brömser* bei einer Temperaturdifferenz von 10°C höchstens um 1 bis 2 Proz.

eines Präparats ist also entscheidend für seine Leitungsgeschwindigkeit bei Verbringung in eine bestimmte Temperatur[1]).

Da voraussichtlich im lebenden Organismus der Druckausgleich ohne Schwierigkeit vor sich geht, schließt *Brömser*, daß die Nervenleitungsgeschwindigkeit beim lebenden Tier nur den für den osmotischen Druck der Körpersäfte geltenden Temperaturkoeffizienten (1,01 für 10° C) aufweist.

In der älteren Literatur liegen einige hierher gehörige Angaben vor. *Valentin*[2]) fand am Kaltfrosch bei Reizung mit Einstichelelektroden eine erhebliche Herabsetzung der Geschwindigkeit (bis 14 m/sec.). *Helmholtz* und *Baxt*[3]) ermittelten für den motorischen Teil des N. ulnaris am Menschen bei Zimmertemperatur im Winter 30, im Sommer 65 m/sec.; *Oehl*[4]) berechnete aus den Reaktionszeiten für die sensiblen Nerven des menschlichen Arms bei 30,3° C Eigentemperatur 25, bei 37,7° C 53 m/sec. Da aber planmäßige Untersuchungen mit neuen Methoden am lebenden Tier unseres Wissens fehlen, bemühten wir uns, diese notwendige Ergänzung vorzunehmen.

Gegenüber der Untersuchung des isolierten Nerven bietet die Ermittelung der Leitungsgeschwindigkeit am lebenden Tiere verschiedene Vorteile: Die Schädigungen der Präparation werden vermieden; der Nerv kann längere Zeit der gewünschten Temperatur ausgesetzt werden, ohne wesentliche Änderungen seiner sonstigen Lebensbedingungen zu erfahren; die Beobachtung kann an demselben Tiere bei der gleichen oder bei anderer Temperatur in größeren Intervallen wiederholt werden.

Schwierigkeiten begegnet aber die Reizung.

Anfänglich legten wir den Nerven des Tieres — wir benutzten Frösche (Eskulenten) — frei: den oberen Abschnitt des Plexus lumbalis vom Rücken her, den N. ischiad. in der Kniekehle, bogen eine Öse aus dünnem Platindraht um den Nerven, die wir nach außen führten, und vernähten. Der Eingriff schädigte jedoch den Nerven allmählich[5]), so daß wir für die mitgeteilten Versuche von jeglicher Verletzung des Tieres absahen und die Reizung durch die äußeren Bedeckungen vornahmen. Diese gelingt ohne weiteres im Verlaufe des Nerven auf der Beugeseite dicht über der Kniekehle. Zur Reizung des Plexus in der Nähe seines Ursprungs wird die Haut des in Bauchlage auf einem gefensterten Brette befestigten Tieres mit der aus zwei starken Platindrähten bestehenden Elektrode von der Seite her so tief eingedrückt, daß — nach Abdrängen der Eingeweide — die Elek-

[1]) Über das Vorzeichen der Abweichung bringt *von Miram* (Arch. f. Physiol. 1906, S. 533) gegenteilige Angaben.

[2]) *G. Valentin*, Moleschotts Unters. z. Naturlehre **10**, H. 5, 1868 (zitiert nach *Virchow-Hirsch*, Jahresber. 1868, **1**, 125).

[3]) *Helmholtz* und *Baxt*, Monatsber. d. Akad. d. Wissensch. Berlin 1870, S. 184.

[4]) *E. Oehl*, Arch. ital. de Biol. **17**, 400, 1892; **24**, 231, 1895. Diese Versuche unterliegen selbstverständlich gewissen Einwänden.

[5]) Vielleicht sind die von *Athanasiu* (Journ. de Physiol. et Pathol. gén. **22**, 52, 1924) zur Ableitung benutzten feinen Goldfäden geeigneter.

trodenenden dicht oberhalb des Darmbeinkammes unmittelbar neben der Wirbelsäule liegen. Die Reizung des Plexus gelingt nur an umschriebener Stelle bei bestimmter Elektrodenlage; diese gestattet eine maximale Reizung mit relativ schwachen Strömen — wir verwandten Kondensatorentladungen —, während in der Umgebung applizierte ziemlich starke Ströme unwirksam sind. Auch am unteren Nervenende erzielt man einen maximalen Effekt schon mit Strömen, die von der Nachbarschaft aus keine Zuckung der Wadenmuskulatur hervorrufen.

Eine wesentliche Störung infolge von Stromschleifen wird auch durch den von uns bei 17,2° C (Zimmertemperatur) gefundenen Mittelwert von 21,3 m/sec unwahrscheinlich, der sogar etwas niedriger ist als der von *Brömser* für 18° C angegebene. Ein möglicher Einfluß von Stromschleifen, der übrigens nach *Durig*[1]) auch bei Tunnelelektroden besteht, wird ebenso wie alle Meßfehler durch die erhebliche Länge der Zwischenstrecke (etwa 5 cm) verringert. Zur Bestimmung der Nervenlänge wurden die geraden Verbindungslinien beider Elektroden mit dem Foramen ischiad. gemessen und addiert.

Die Versuche wurden im Juni und Juli 1923 ausgeführt. Die eigenartigen Witterungsverhältnisse jenes Jahres ermöglichten, Sommerfrösche innerhalb weniger Wochen bei den mittleren Zimmertemperaturen von 17,2 und 22,6° C zu untersuchen. Außerdem wurden die Tiere meist zwei künstlich erzeugten Temperaturen ausgesetzt, wobei bald die höhere, bald die tiefere zu Beginn einwirkte. Bei den Kälteversuchen wurden die Frösche gewöhnlich zunächst mehrere Stunden bis Tage im Eisschrank aufbewahrt, dann je nach der gewünschten Temperatur etwa 1 Stunde in kaltem Wasser oder auf Eis gekühlt. Zur Erwärmung kamen Zimmertiere für ½ bis 1 Stunde in heißes Wasser; dabei konnte allerdings nur eine durchschnittliche Körperwärme von 26° C erreicht werden, da bei höheren Temperaturen die Tiere rasch Schaden leiden und zugrunde gehen. Während des Versuchs selbst wurde der Frosch über einer Celluloidfolie auf Eis oder Wasser entsprechender Temperatur gelagert und auch von oben her gekühlt oder erwärmt — unter Schutz vor Austrocknung, die nach *Durig*[1]) am nachträglich ausgeschnittenen Nerven eine Verlangsamung der Leitungsgeschwindigkeit hinterläßt. Die Temperaturmessung erfolgte im Oesophagus und an der Haut der Beugeseite des Oberschenkels, wobei der Unterschied meist nur wenige zehntel Grad betrug.

Zur Darstellung der Latenzzeiten bei zentraler und peripherer Reizung wurde der Aktionsstrom des M. gastrocnemius mit unpolarisierbaren Elektroden abgeleitet, die an die Wadenhaut gelegt waren. und durch einen Zweiröhrenverstärker mit Kapazitätsendschaltung in einen Oszillographen geschickt (beide Apparate stammten von der

[1]) *A. Durig*, Arch. f. d. ges. Physiol. **92**, 293, 1902.

Firma Siemens und Halske). Aktionsstrom und Reizstrom wurden gleichzeitig mit zwei Meßschleifen bei einer Papiergeschwindigkeit von 5,6 m/sec aufgeschrieben [die den Aktionsstrom aufzeichnende Schleife hatte 1300, die andere etwa 7500 gedämpfte Doppelschwingungen pro Sekunde[1])].

Jede Aufnahme wurde mindestens zweimal wiederholt.

Die gut meßbaren Kurven zeigen außer der Reizzacke einen ausgeprägten diphasischen Muskelaktionsstrom, dem sich, besonders in der Wärme, ein zweiter, reflektorisch bedingter Muskelaktionsstrom anschließen kann. Das Auftreten dieser reflektorischen Erregung beweist, daß bei der proximalen Reizung tatsächlich der Nerv und nicht das Rückenmark getroffen wird[2]). Den Fehler der einzelnen Messung möchte ich in Übereinstimmung mit *Brömser* für 10, 20 und 30 m/sec Leitungsgeschwindigkeit auf höchstens 5, 10 und 15 Proz. veranschlagen.

Unsere Versuchsergebnisse haben wir in einer Tabelle zusammengestellt, die sowohl die Durchschnittszahlen als auch die Grenzwerte für Temperatur und Geschwindigkeit, den Temperaturkoeffizienten für 10° C (aus den Mittelwerten), die Zahl der Beobachtungen und die Behandlung der Tiere enthält. Der obere Teil der Tabelle bezieht sich auf die Versuche mit künstlicher Abkühlung oder Erwärmung, der untere auf die Versuche bei Zimmertemperatur.

Temperatur °C	m/sec	Q_{10}	Zahl der Beobachtungen	Bemerkungen
3,54 (1,6— 4,7)	6,55 (3,7— 9,45)		10	Gekühlt
7,51 (5,5— 9,6)	11,55 (11,0—12,4)	4,17	8	Gekühlt
12,45 (10,8—14,9)	18,38 (15,0—22,9)	2,56	12	Gekühlt
25,97 (25,6—26,4)	33,62 (30,4—35,5)	1,56	6	Erwärmt
17,16 (16,6—20,0)	21,27 (18,8—24,0)	1,58	9	Zimmertemperatur
22,58 (21,2—24,4)	27,25 (22,2—34,2)		10	Zimmertemperatur

Man sieht, daß auch beim unversehrten lebenden Tiere die Nervenleitungsgeschwindigkeit mit steigender Temperatur wesentlich anwächst. Wie sich aus den Temperaturkoeffizienten ergibt, ist diese Zunahme größer im Bereich niedrigerer, kleiner im Bereich höherer Temperaturen[3]). Diese Tatsache deckt sich mit den früheren Erfahrungen am isolierten Nerven.

[1]) Zur Technik vgl. *H. Rosenberg*, Ber. d. ges. Physiol. **21**, 499, 1924.

[2]) Die Methode gestattet also die Messung der intrazentralen Reflexzeit und soll noch zu diesem Zwecke verwertet werden.

[3]) Die Differenzen gegen die von *Sugimoto* (a. a. O.) mitgeteilten Werte beruhen auf der jetzigen Berechnung für Durchschnittstemperaturen, während seinerzeit Mittel aus Intervallen von je 5° C gebildet worden waren.

Im Hinblick auf die geschilderten Anschauungen *Brömsers* ist besonders hervorzuheben, daß in den Grenzen der natürlichen Schwankungen der Umgebungstemperatur derselbe Temperaturkoeffizient herrscht wie bei künstlicher Temperierung auf 12,5 und 26° C. Der von uns unter natürlichen Außenbedingungen gefundene Temperaturkoeffizient beträgt 1,58 und übersteigt bei weitem den von *Brömser* auf Grund seiner Hypothese erwarteten Wert.

Das Sinken von Q_{10} bei Steigen der Temperatur spricht nicht gegen die Annahme, daß chemische Reaktionsgeschwindigkeiten beim Leitungsvorgang maßgebend beteiligt sind. Auch bei rein chemischen Prozessen fällt Q_{10} zumeist mit wachsender Temperatur[1]). Am physiologischen Objekt können in der Wärme den Umsatz beschränkende Gegenwirkungen eintreten[2]).

Wir wissen ferner, daß auch andere Lebenserscheinungen des Kaltblüternerven etwa zwischen 0 und 10° C mehr oder weniger jähe Veränderungen erleiden, dagegen innerhalb mittlerer Temperaturen (unterhalb der Grenzen schädlicher Erwärmung) nur mäßige Schwankungen darbieten[3]). Von neueren Erfahrungen sei der von *Thörner*[4]) beschriebene Umschlag der polaren Erregbarkeit des Froschnerven bei Abkühlung erwähnt, der gleichzeitig mit einer Störung der Leitfähigkeit bei ungefähr 4° C eintritt. Umgekehrt muß eine Erklärung des Leitungsvorgangs diese Zusammenhänge einbeziehen oder in der Voraussetzung enthalten.

Wir lassen zunächst dahingestellt, wie weit die Hypothese einer rein physikalisch gedachten Konzentrationswelle diesen Erfordernissen angepaßt werden kann. Eine eingehendere Erörterung glauben wir vorerst aus folgenden Gründen zurückstellen zu dürfen.

Brömser hatte aus seiner Formel gefolgert, daß die Leitungsgeschwindigkeit mit dem osmotischen Drucke zu- und abnimmt, und erhielt die entsprechenden Änderungen der Leitungsgeschwindigkeit bei halb- bis einstündiger Behandlung des Froschnerven mit anisotonischen Ringerlösungen. Unveröffentlichte Versuche mit *U. Tanaka*, die den gegenseitigen Anteil der Salz- bzw. Ionenkonzentration und des osmotischen Druckes am Ausmaß der Nervenleitungsgeschwindigkeit klären sollten, führten zu anderen Ergebnissen. Weder in doppelter Ringerlösung noch in salzhaltiger hypertonischer Zuckerlösung, die

[1]) *A. Kanitz*, Temperatur und Lebensvorgänge, S. 10. Berlin 1915.
[2]) Vgl. *A. Pütter*, Zeitschr. f. allg. Physiol. **16**, 574, 1914.
[3]) Vgl. *H. Rosenberg*, Zeitschr. f. Biol. **72**, 201, 1920, besonders S. 217ff.
[4]) *W. Thörner*, Arch. f. d. ges. Physiol. **206**, 411, 1924. Entsprechende Angaben über das Froschherz finden sich in der vorgenannten Arbeit von *H. Rosenberg*.

nach älteren Angaben *Ishikawas*[1]) eine Steigerung der Leitungsgeschwindigkeit erzeugen sollte, aufbewahrte Nerven zeigten eine Verkürzung der Differenz der Latenzzeiten (bei Ableitung der Nervenaktionsströme). Nach Liegen in halber Ringerlösung besaßen die Nerven in einer Versuchsreihe den von *Brömser* beobachteten Wert, in zwei anderen Versuchsreihen blieben sie hinter dem aus der Formel berechneten Betrag noch erheblicher zurück als *Brömsers* eigene experimentelle Zahl. Weitere Darlegungen erfolgen in der ausführlichen Mitteilung.

Nachdem wir wissen, daß einerseits der Nerv einen Erregungsstoffwechsel aufweist[2]), andererseits Leitfähigkeit und Erregbarkeit eng miteinander verknüpft sind[3]), muß man auch die Geschwindigkeit mit welcher der Prozeß der Leitung fortschreitet, von Bedingungen chemischen Umsatzes abhängig vermuten. Die Anschauung, daß die Erregungsleitung die lokale Weitergabe der Erregung selbst durch den Aktionsstrom sei, enthält unausgesprochen diese Beziehungen. Unsere Ergebnisse können daher als Stütze dieser Lehre betrachtet werden.

Zusammenfassung.

1. Die Geschwindigkeit der Erregungsleitung im motorischen Nerven des lebenden, unverletzten Sommerfrosches (Rana esculenta) zeigt einen beträchtlichen Temperaturkoeffizienten. Werden die Tiere künstlich für möglichst lange Zeit auf durchschnittlich 12,5° C gekühlt oder auf 26° C erwärmt, so beträgt der Temperaturkoeffizient für 10° C 1,56. Bei langfristigen natürlichen Schwankungen der Zimmertemperatur um etwa 5,5° C wurde $Q_{10} = 1{,}58$ gefunden. Bei Senkung der Eigentemperatur unter 12,5° C steigt der Koeffizient erheblich.

2. Neue Untersuchungen mit *U. Tanaka* ließen eine Zunahme der Leitungsgeschwindigkeit des isolierten Froschnerven nach Aufenthalt in hypertonischer Ringer- und Zucker-Ringerlösung vermissen.

3. Beide Tatsachen scheinen sich der Analogisierung der Erregungsleitung mit der Fortpflanzung einer Konzentrationswelle nicht zu fügen. Der auf chemisch beeinflußte Reaktionsgeschwindigkeiten hinweisende Temperaturkoeffizient steht im Einklang mit der Stromtheorie der Erregungsleitung.

---

[1]) *H. Ishikawa*, Zeitschr. f. allg. Physiol. **13**, 225, 1912. Herr *Ishikawa* möchte auf Grund eigener Nachprüfungen die dort mitgeteilten diesbezüglichen Zahlen nicht aufrecht erhalten; seine späteren Befunde stehen im Gegensatz zu denen von *Brömser* (mündliche Mitteilung im Oktober 1924). Vgl. *R. Shoji*, Amer. Journ. of Physiol. **47**, 512, 1919.

[2]) Vgl. die zusammenfassende Darstellung von *G. Peritz*, Oppenheimers Handb. d. Biochem. **8**, 91, 2. Aufl. Jena 1924.

[3]) Siehe *M. Cremer*, Nagels Handb. d. Physiol. **4**, 935ff. Braunschweig 1909.

Zur Kenntnis des Chaulmoogra- und Margosaöls, zugleich Beitrag zur heterogenen Katalyse[1]).

Von

F. F. Nord und G. G. Schweitzer.

(Vorläufige Mitteilung aus dem physiologischen Institut der Tierärztlichen Hochschule Berlin.)

(Eingegangen am 31. Januar 1925.)

Mit 4 Abbildungen im Text.

In ihren grundlegenden Untersuchungen über die Zusammensetzung des Chaulmoograöls und den Aufbau seiner Bestandteile sind *Power*, *Gornall* und *Barrowcliff*[2]) zu der Ansicht gelangt, daß es außer Palmitinsäure im wesentlichen Glyceride zweier der Leinölreihe angehörigen, aber cyklischen Fettsäuren, der Chaulmoograsäure und Hydnocarpussäure

```
 CH                              CH2
//\                              /\
CH  CH[CH2]12.COOH  ⇄  CH—C [CH2]12.COOH (Chaulmoograsäure)
|   |                  |   |
CH2.CH2                CH2 CH2

 CH                              CH2
//\                              /\
CH  CH[CH2]10 COOH  ⇄  CH—C [CH2]10.COOH (Hydnocarpussäure)
|   |                  |   |
CH2 CH2                CH2.CH2
```

enthält. — Beide sind optisch stark aktiv.

Das in seiner Wirkung gegen die Lepra dem Chaulmoograöl noch überlegenere Produkt ist das Margosaöl, welches nach den Angaben von *Chatterji* und *Sen*[3]) eine, gleichfalls der Leinölreihe angehörige, aber nicht cyklische Fettsäure, die *Margosasäure*, $C_{20}H_{40}O_2$ als wirksamen Bestandteil enthält. Unsere Kenntnisse über diese Öle in chemischer Hinsicht sind inzwischen nur insofern bereichert worden, als nach den Feststellungen von *Dean* und *Wrenshall*[4]) angenommen werden kann, daß aus dem Chaul-

---

[1]) Die Untersuchung erfreute sich zum Teil der Unterstützung der Notgemeinschaft der deutschen Wissenschaft (Hoshi-Stiftung).

[2]) *F. B. Power*, *F. H. Gornall* und *M. Barrowcliff*, Soc. **85**, 838, 851, 1904; **87**, 884, 1905; **91**, 562, 1907.

[3]) *K. K. Chatterji* und *R. N. Sen*, Indian. Journ. of med. Res. 8, 356, 1920.

[4]) *A. L. Dean* und *R. Wrenshall*, Am. Soc. **42**, 2626, 1920.

moograöl trotz großer Schwankungen etwa 5 Proz. an Hydnocarpussäure bzw. 10 Proz. an Chaulmoograsäure in reinem Zustande gewonnen werden können.

Um so unklarer bzw. widersprechender sind die Vorstellungen, welche den Zusammenhang zwischen physiologischer bzw. pharmakologischer Wirkung einerseits und chemischer Konstitution andererseits betreffen. Anschließend an die Untersuchungen von *Engel Bey*[1]) haben insbesondere amerikanische, englische und neuerdings auch indische Forscher sich die Aufgabe gestellt, diese Zusammenhänge aufzuklären. Vom Standpunkt der Stoffwechselphysiologie haben sich mit der Deutung der Wirkung auch *Thoms* und *Müller*[2]) sowie *Read*[3]) beschäftigt.

Die spezifisch abtötende Wirkung auf säurefeste Bakterien führen *Walker* und *Sweeney*[4]) auf die für Chaulmoogra- und Hydnocarpussäure charakteristische *ring*förmige Anordnung des Moleküls zurück, ohne dabei die starke *optische Aktivität* der Säuren in Betracht zu ziehen.

Danach wäre es auch nicht unerklärlich, wenn man die Vergiftungsfälle, welche sich Ende des Jahres 1910 nach dem Genuß von „Backa"-Margarine[5]) bemerkbar machten, dem gleichen Prinzip zuschriebe.

Im Widerspruch zu dieser Annahme stehen die Feststellungen von *Chatterji* und *Sen*[5]). Die von ihnen isolierte Margosasäure scheint demnach *nicht* cyklisch zu sein, ist optisch inaktiv und ihre Natriumsalze bzw. verschiedene ihrer Ester sind hinsichtlich ihrer therapeutischen Wirksamkeit den entsprechenden Chaulmoograpräparaten deutlich überlegen.

Der Gegensatz in den Auffassungen über den Träger der pharmakologischen bzw. physiologischen Wirkung wäre also dahin zu formulieren, daß nach den amerikanischen Beobachtungen die Wirkung dem cyklischen ungesättigten Prinzip ungeachtet der optischen Aktivität zuzuschreiben war, nach den Feststellungen der indischen Forscher dagegen wirkte eine nicht cyklische, optisch inaktive und ungesättigte Verbindung noch intensiver.

Ohne die Gründe weit suchen zu müssen, schien es sehr verlockend, einen Versuch zur Klärung dadurch zu unternehmen, daß es gelingen müßte, die optische *Aktivität* bzw. die Sättigung der Verbindungen aufzuheben bzw. zu steigern, ohne dadurch die Konstitution irgendwie zu verändern.

Dank der liebenswürdigen Bemühungen von Herrn Professor Dr. *K. H. Sen* konnten wir entsprechende Mengen von Chaulmoogra- bzw. Margosaöl, sowie der Fettsäuregemische aus Chaulmoogra- bzw. Hydnocarpusöl aus Indien erhalten und waren dadurch in die Lage versetzt, anknüpfend an frühere, ausgedehnte Untersuchungen des einen[6]) von uns

[1]) *Fr. Engel Bey*, Arch. f. Dermatol. und Syphilis **110**, 147, 1911.
[2]) *H. Thoms* und *F. Müller*, Zeitschr. f. Unters. d. Nahr.- u. Genußm. **22**, 226, 1911.
[3]) *B. E. Read*, Journ. of biol. Chem. **62**, 515, 541, 1924.
[4]) *E. L. Walker* und *M. A. Sweeney*, Journ. of infect. dis. **26**, 238, 1920.
[5]) l. c.
[6]) *F. F. Nord*, Zeitschr. f. angew. Chem. **32**, 305, 1919; The Amer. Perfumer **14**, 416, 1920. — *J. König*, Chemie d. menschl. Nahrungs- u. Genußmittel, Nachtrag zu Bd. I B., S. 173. Berlin 1923.

zum ersten Male systematische Versuche zur Hydrierung auch cyklischer Öle bzw. Fettsäuren vorzunehmen.

Aus dem zusammenfassenden Bericht von *Normann*[1]) konnte festgestellt werden, daß sich der Stand unserer grundsätzlichen Kenntnisse über die katalytische Hydrierung von Fetten seit dem Erscheinen obiger Untersuchungen nicht wesentlich verändert hat, und dasselbe trifft auch bei Betrachtung der kürzlich mitgeteilten Versuchsergebnisse von *Kahlenberg* und *Tsu Pei Pi*[2]) zu. Auch in theoretischer Hinsicht sind die wichtigsten Feststellungen von *Langmuir*[3]), *Armstrong* und *Hilditch*[4]), welch letztere aber von *Normann* anscheinend mißverstanden wurden, *Pólányi*[5]), *Pease*[6]), *Nord*[7]), sowie *Schlenk* und *Weichselfelder*[8]) in der Adsorptions- bzw. Zwischenstufenkatalyse nicht überholt worden. Wichtige allgemeine Beiträge zur Hydrierung hochmolekularer Verbindungen haben *Schroeter* und *Mitarbeiter*[9]) geliefert. Man wird daher erfahrenen Kennern dieses Gebietes wie *Armstrong* und *Hilditch*[10]) auch angesichts der jüngsten Ausführungen von *Bancroft*[11]) im zweiten Bericht des amerikanischen *Committee on Contact Catalysis* und *Bodenstein*[12]) vielleicht zustimmen können, wenn sie sagen:

„Whether this is psychological or etymological difference, it is perfectly plain that the Committee's final conclusion, the *Langmuir* theory of adsorption in so far as it applies to catalysis, and our own intermediate compound theory, all come to the same thing. Frankly, we are tired of etymological splitting of hairs in this matter. Organic chemists will allways regard these things from their own standpoint, and so will physical chemists or pure physicists; but what we maintain is that in recent work on catalysis the ‚adsorption' school of physicists and the ‚intermediate compound' group of organic chemists have developed theories which are on closely converging lines, and we suggest that the next move is a definite acceptance of this fact by both sides followed by mutual exchange of views to facilitate further progress. If the organic chemist, for example were to state frankly the details which do not fit in closely with his point of view, and mutual examination of temporarily irreconcilable data were undertaken by representatives of the chemical und physical views from their respective standpoints, it is more likely that progress would be resumed than if the apparently interminable discussion on terminology were pursued further."

Sollte es möglich sein, in Verbindung mit der Herabsetzung ihrer Jodzahl die optische Aktivität[13]) von Chaulmoograölen durch kata-

[1]) *W. Normann*, Zeitschr. f. angew. Chem. **35**. 437, 1922.

[2]) *L. Kahlenberg* und *Tsu Pei Pi*, Journ. of physical. Chem. **28**, 59, 1924.

[3]) *J. Langmuir*, Am. Soc. **38**, 2221, 1916; **39**, 1848, 1917; **40**, 1361, 1918.

[4]) *E. F. Armstrong* und *T. P. Hilditch*, Proc. Roy. Soc. **97** A., 265, 1920.

[5]) *M. Pólányi*, Zeitschr. f. Elektrochem. **27**, 142, 1921.

[6]) *R. N. Pease*, Am. Soc. **45**, 1196; 1923.

[7]) *F. F. Nord*, B. **52**, 1705, 1919.

[8]) *W. Schlenk* und *Th. Weichselfelder*, B. **56**, 2230, 1923.

[9]) *G. Schroeter* u. *Mitarbeiter*, Ann. **426**. 1, 1922; B. **57**, 2003, 2025, 1924.

[10]) *E. F. Armstrong* u. *T. P. Hilditch*, Journ. Soc. Chem. Ind. **41**, 305, 1922.

[11]) *W. D. Bancroft*, Journ. of Phys. Chem. **27**, 937, 1923.

[12]) *M. Bodenstein*, A. **440**, 185, 1924.

[13]) Leider wurde zu dieser Frage auch in den umfassenden, viel zu wenig beachteten Untersuchungen von *J. Lund* (Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. **44**, 113, 1922) nicht Stellung genommen.

lytische Anlagerung von Wasserstoff aufzuheben, so müßten übereinstimmend mit den Anschauungen der amerikanischen Forscher Produkte entstehen, welche, da die Aufhebung der optischen Aktivität ohne jegliche Strukturänderung lediglich durch die Formel

$$\begin{array}{l} CH_2 . CH_2 \\ | \quad\quad | \!\!> CH\,[CH_2]_{12} . COOH. \\ CH_2 . CH_2 \end{array}$$

zum Ausdruck zu bringen ist, bei Einverleibung durch Nahrungsmittel noch immer als physiologisch giftig oder unerträglich anzusprechen wären.

Die durchgeführten orientierenden Stoffwechselvorversuche geben uns nicht die Möglichkeit, uns dieser Meinung anzuschließen. Ohne aber irgend eine Ansicht über die therapeutische Wirksamkeit dadurch zum Ausdruck zu bringen — die Durchführung derartiger Versuche ist hier nicht beabsichtigt —, teilen wir mit, daß durch ein Öl, welches noch die optische Aktivität $[\alpha]_D^{18} = + 8{,}9^0$ (in Chloroform) zeigte, bei einer Beimengung von 1,5 g pro Kilogramm Tier zur verabreichten normalen Kost, ein Hund in etwa 20 Stunden getötet wurde[1]).

Bei einem zweiten Hunde hat die Beimengung von 0,8 g desselben Öles pro Kilogramm Tier zum gleichen Futter das Erbrechen der gesamten gefressenen Kost innerhalb $1\frac{1}{2}$ bis 2 Stunden hervorgerufen. Er machte hiernach noch längere Zeit einen matten mitgenommenen Eindruck. Demselben Hunde wurden, nachdem er sich gänzlich erholt hat und die alte Freßlust zeigte, 0,8 g pro Kilogramm eines optisch vollständig inaktiven Öles von allerdings sehr hohem Schmelzpunkt (65 bis 69⁰) mit dem Futter verabreicht. Hier zeigte sich nach einer vorübergehenden leichten Übelkeit gar keine Wirkung. Der Hund blieb sehr munter und konnte nach Einschaltung eines Hungertages für die nächsten Versuche verwendet werden. ***Mit zunehmender Racemisierung nimmt also die Giftigkeit anscheinend ab***[2]).

Die dann mit hydriertem (geruchlosem) sowohl, als unhydriertem (von einem ekelerregenden Geruch behafteten) Margosaöl durchgeführten Versuche mit je 1 g pro Kilogramm Tier zeigten gleichfalls keine Wirkung beim Tiere.

---

[1]) Die von Herrn *H. Rosenberg* vom hiesigen Institut in dankenswerter Weise ausgeführte Sektion ergab einen akuten, entzündlichen Prozeß im Magen und oberen Dünndarmabschnitt. Aus den Krampferscheinungen dürfte man auf eine zentral-nervöse Komponente im Vergiftungsbild schließen.

[2]) Vgl. auch *R. Willstätter*, *O. Wolfes* und *H. Mäder*, Ann. **434**, 116, 1923.

Zur Herstellung der Präparate wurde folgender Weg eingeschlagen:

Ein geeigneter Hochdruckrührautoklav, für dessen leihweise Überlassung wir dem *Vorstand der Bayerischen Stickstoffwerke A.-G.* bzw. deren Charlottenburger Hauptlaboratorium auch an dieser Stelle verbindlichst danken, wurde mit je 50 bis 100 g des zu hydrierenden Öles bzw. Gemisches von Fettsäuren beschickt und der Inhalt in Gegenwart von fein verteiltem Palladium bzw. auf Kieselgur niedergeschlagenem, reduziertem Nickelformiat, welchem ungefähr 1 Proz. Kupfer beigemengt war, mit Elektrolyt-Wasserstoff unter 8 bis 10 Atm. bzw. etwa 20 Atm. Überdruck bei 80 bis 90° bzw. 180 bis 200° je nach Bedarf [durchschnittlich 8 bis 10 Stunden[1])] intensiv gerührt. Nicht übereinstimmend mit der kürzlich bei der Prüfung der Vorgänge bei der Kohlenoxydhydrierung geäußerten Anschauung von *Medsforth*[2]), hat sich das Beimengen eines „Begünstigers" der Katalyse zum Nickel, in Form von Kupfer, sehr gut bewährt. Es wurde stets darauf geachtet, daß die Berührungsfläche zwischen der Gas- und Flüssigkeitsphase im Verhältnis zur Schichthöhe des Öles möglichst groß sei. Bei den Versuchen in Gegenwart von Palladium wurde entsprechend früheren Angaben des einen von uns stets ohne besonders beigemengtes Schutzkolloid und in Abwesenheit von besonders zugefügter Salzsäure gearbeitet[3]). Die Rolle des Schutzkolloids muß in diesen Fällen wahrscheinlich der Substanz selbst zugeschrieben werden.

Bei den Versuchen in Gegenwart von Nickel wurde erst die Zersetzung des Nickelformiats (aber bereits vereinigt mit dem zu hydrierenden Öle) vorgenommen. Als geeignete Zersetzungstemperatur wurden 180 bis 190° beobachtet. Es erwies sich aber logischerweise

[1]) Nach einer vor längerer Zeit verbreiteten Behauptung soll es der Firma *C. F. Böhringer u. Söhne* in Mannheim Waldhof gelungen sein, in technisch geeigneten Rührautoklaven die *meisten* Fette in *beliebigen* Mengen in Gegenwart von Palladium in 2 bis 3 Stunden in feste Glycerinester umzuwandeln. Trotz eifrigster Bemühungen ist es uns *nicht* gelungen, auch nur den geringsten Anhaltspunkt für die Richtigkeit dieser Behauptung in zeitlicher Hinsicht zu finden.

[2]) *S. Medsforth*, Soc. **123**, 1460, 1923.

[3]) Vgl. *F. F. Nord*, Zeitschr. f. angew. Chem. **32**, 309, 1919 (Kap. 7). In den ausgezeichneten Untersuchungen von *Straus* und *Grindel* (Ann. **439**, 279, 1924) wird die Erwähnung dieser methodischen Verbesserung bei gleichzeitiger Anwendung vollkommen unterlassen, trotzdem Herr *G.* bereits in Frühjahr 1924 auf zurückliegende Untersuchungen von *N.* mündlich verwiesen wurde.

Der Hinweis *Klimonts* (Die neueren synthetischen Verfahren der Fettindustrie Leipzig 1922, S. 106) auf die Anwesenheit von Salzsäure, könnte beim weniger orientierten Leser den Eindruck erwecken, daß sie zur Hydrierung in Gegenwart von Palladiumchlorür *unerläßlich* sei. — Derartige Versehen in der Kritik dürften aber nur auf mangelhafte Berücksichtigung der Literatur zurückzuführen sein.

als nützlich, um die Zersetzung nicht zu hemmen, den Wasserstoffüberdruck während der Zersetzung so niedrig wie möglich zu halten. Bei Einhaltung der oben angegebenen Temperatur ist die Umwandlung des Katalysators in seine wirksame Form[1]) in $2\frac{1}{2}$ bis 3 Stunden beendet.

Die Apparatur war für die direkte Messung des verbrauchten Wasserstoffs (v_H) nicht geeignet. Es mußten daher Überlegungen angestellt werden, um die Menge des absorbierten Gases rechnerisch zu ermitteln.

Die Kenntnis des Fassungsvermögens der Gesamteinrichtung vorausgesetzt, war dies in denjenigen (wenigen) Fällen sehr einfach, bei welchen der verbrauchte Wasserstoff durch Nachfüllen während des Versuchs nicht ergänzt wurde. In diesen Fällen konnte die Menge mit Hilfe der abgelesenen Differenz zwischen Anfangs- (p_2) und Enddruck (p_1) bei gleicher Temperatur in der Weise berechnet werden, daß die Differenz zwischen dem Fassungsvermögen (V_2) des Autoklaven und Volumen der zu hydrierenden Ölmenge (V_1) mit der abgelesenen Druckdifferenz vervielfacht wurde:

$$v_H = (V_2 - V_1) \cdot (p_2 - p_1)\,^{2)}.$$

Unendlich schwerfällig war dagegen die Berechnung bei den Versuchen, während welcher der verbrauchte Wasserstoff öfters nachgefüllt wurde. Es gelang nicht, unter Zuhilfenahme physikalischer Werte (Strömungsgeschwindigkeit, Ausdehnung usw.) einen strengen mathematischen Ansatz zu finden.

Es möge also hier nur angedeutet werden, daß es angestrebt wurde, Ergebnisse auf empirischem Wege zu erzielen. Hierüber soll später ausführlich berichtet werden.

Es standen uns zweierlei, ziemlich identische Chaulmoograöle von der Jodzahl 98,7 bzw. 97,9 und mit einer Rechtsdrehung von $[\alpha]_D^{18} = 45{,}7^0$ bzw. $46{,}6^0$ (in Chloroform) zur Verfügung[3]). Sie waren hellgelb und geruchlos. Das erhaltene Margosaöl hatte einen stinkenden, ekelerregenden Geruch und die Jodzahl 69,8[4]). Das Fettsäuregemisch aus Chaulmoograöl war fest, weiß, zeigte die Jodzahl 92,3 und war mit $40{,}2^0$ rechtsdrehend. Ähnliche Eigenschaften hat das Fettsäuregemisch aus Hydnocarpusöl [Jodzahl 91,8, $[\alpha]_D^{18} = +50{,}9^0$] in Chloroform.

---

[1]) Vgl. *W. D. Richardson*, Chem. and Metallurg. Eng. **22**, 793, 1920.

[2]) Hierbei wurden die etwa vom Metall absorbierten Gasmengen (vgl. *A. Sieverts*, Ph. Ch. **60**, 170, 1907) nicht in die Berechnung einbezogen.

[3]) Vgl. dagegen *B. E. Read*, Pharm. Journ. **111**, 412, 1923.

[4]) Die Angaben über die Jodzahl des Margosaöls sind in der Literatur sehr schwankend. *Chatterji* und *Sen* (l. c.) teilen für sie 151 mit. Im Handbuch von *Fabris* (Olii e grassi vegetali-animali minerali, Milano 1923) wird sie in der Höhe von 135 bis 136 angeführt. Ein Orientierungsversuch in der neuesten Auflage von *Holde* (Kohlenwasserstoffe und Fette, Berlin 1924) scheiterte an der Tatsache, daß Angaben aus der *Original*literatur überhaupt nicht zu finden waren.

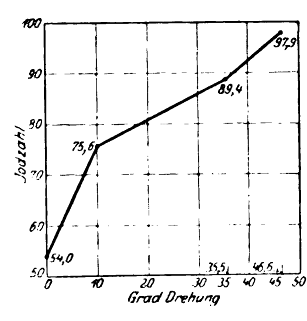
Nach vollendeter Hydrierung und Erkaltenlassen der Apparatur wurden die Öle vom Palladium durch einfaches Abgießen der geschmolzenen Öle, vom Nickel dagegen durch Extraktion mittels Benzin getrennt.

Es wurden, abgesehen von einigen Fällen (vgl. die Tabelle auf S. 276), meistens etwas dunkel gefärbte Produkte von etwa Butterkonsistenz erhalten. Eine Verminderung der Jodzahl der Chaulmoograöle unter 54 und der des Margosaöls unter 48,8 wurde in keinem Falle unter den angegebenen Bedingungen erreicht, auch dann nicht, wenn zwecks Entfernung etwaiger Katalysatorgifte die Ölproben zuerst einer Behandlung mit Silicagel[1]) unterworfen wurden.

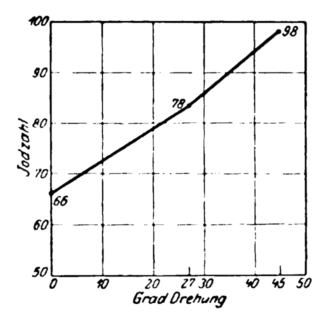
Die optische Aktivität des Chaulmoograöles wird von *Power* und *Gornall* (l. c.) mit + 51,3 bis + 52,0° angegeben, die Jodzahl beträgt dagegen durchschnittlich 92. Wenn also in den hiesigen Fällen bei *niedrigerer* optischer Aktivität eine wesentlich *höhere* Jodzahl festgestellt wurde, so ist auch nach dem Ergebnis der Hydrierung durchaus möglich, daß diese veränderten Konstanten auf Beimengungen von Linolensäure zurückzuführen sind[2]). Das Verhalten dieser Öle bei der Hydrierung deckt sich auch mit einer älteren Beobachtung von *Marcusson* und *Meyerheim*[3]), nach welcher bei Gemischen ein Teil der stärker ungesättigten Säuren auch dann noch unhydriert bleibt, wenn bereits weniger ungesättigte Säuren zum großen Teil in gesättigte übergeführt wurden.

Der auf S. 272 ausgesprochenen Erwartung entsprechend, war die sinkende Jodzahl stets von einer Abnahme bzw. vollständigem Verschwinden der optischen Aktivität begleitet.

Die betreffende Beziehung bei den beiden Chaulmoograölen wird durch nachfolgende Diagramme am besten beleuchtet:



Chaulmoogra-Öl II.



Chaulmoogra-Öl I.

Abb. 1 u. 2. Jodzahl und optische Aktivität.

[1]) *W. A. Patrick*, Dissertation Göttingen 1914.

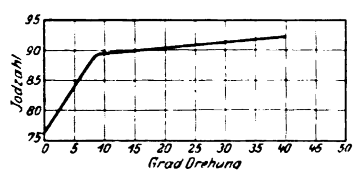
[2]) Vgl. *A. S. Koss*, Prz. Chem. **4**, 39.

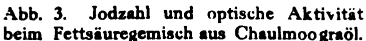
[3]) *J. Marcusson* und *G. Meyerheim*, Zeitschr. f. angew. Chem. **27**, I, **261**, 1914.

Einen Überblick über die Eigenschaften der Ausgangsmaterialien, der Hydrierungsprodukte sowie Dauer und Art der Behandlung liefert die nachfolgende Tabelle:

Nr.	Art des Öles	Jodzahl	Optische Aktivität	Angewandte Substanzmenge	Jodzahl	Optische Aktivität	Schmelzpunkt	Dauer der Hydrierung	Temperatur der Hydrierung	Katalysator	Bemerkungen
		vor der Hydrierung		g	nach der Hydrierung						
1	Margosaöl	69,8	0,0°	50	56,7	0,0°	—	7h	76—80°	5 ccm 1 proz. $PdCl_2$-Lösung	
2	Dasselbe	69,8	0,0	50	61,2	0,0	—	6 40′	76—81	Dasselbe	Mit Silicagel behandelt
3	Dasselbe	69,8	0,0	50	57,3	0,0	—	7	81—92	Dasselbe	
4	Dasselbe	69,8	0,0	50	57,6	0,0	—	9	70—105	Dasselbe	
5	Dasselbe	69,8	0,0	100	48,8	0,0	57—61	5	177—198	Nickelformiat 15 g	
6	Chaulmoograöl I	98,7	+ 45,7	50	60,9	nicht bestimmt	—	6	80—110	5 ccm 1 proz. $PdCl_2$-Lösung	
7	Dasselbe	98,7	45,7	50	72,3	ebenso	—	7	60—70	Dasselbe	Mit Silicagel behandelt
8	Dasselbe	98,7	45,7	50	65,9	0,0	—	5	70—104	Dasselbe	Wurde dreimal erfolglos nachhydriert
9	Dasselbe	98,7	45,7	50	78,4	+ 27,6	—	4,5	82—91	Dasselbe	
10	Chaulmoograöl II	97,9	+ 46,6	50	65,3	+ 8,9	29—32	5	60—100	Dasselbe	
11	Dasselbe	97,9	46,6	50	55,6	nicht bestimmt	—	8	67—90	Dasselbe	Mit Silicagel behandelt
12	Dasselbe	97,9	46,6	50	63,7	Ebenso	—	5,5	74—84	Dasselbe	
13	Dasselbe	97,9	46,6	50	54,0	Ebenso	—	9	80—91	Dasselbe	
14	Dasselbe	97,9	46,6	50	89,4	+ 35,5	—	2,5	77—90	Dasselbe	
15	Dasselbe	97,9	46,6	25	75,6	+ 10,0	—	5,5	77—90	Dasselbe	
16	Dasselbe	97,9	46,6	50	54,0	0,0	65—69	10	179—204	Nickelformiat 15 g	Mit Silicagel behandelt
17	Fettsäuregemisch aus Chaulmoograöl	92,3	+ 40,2	50	89,0	+ 8,5	—	5,25	82—117	5 ccm 1 proz. $PdCl_2$-Lösung	
18	Dasselbe	92,3	40,2	50	75,9	0,0	44—46	10	177—193	Nickelformiat 10 g	
19	Fettsäuregemisch aus Hydnouarpusöl	91,8	+ 50,9	50	88,4	+ 11,7	—	8,3	84—104,5	5 ccm 1 proz. $PdCl_2$-Lösung	
20	Dasselbe	91,8	50,9	50	82,8	0,0	42—43	12	166—210	Nickelformiat 7,5 g	

Die Verhältnisse bei den Fettsäuregemischen aus Chaulmoograöl bzw. Hydnocarpusöl werden dagegen durch nachstehende Diagramme wiedergegeben:




Abb. 3. Jodzahl und optische Aktivität beim Fettsäuregemisch aus Chaulmoograöl.

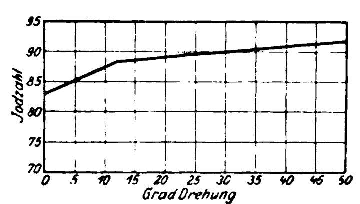


Abb. 4. Jodzahl und optische Aktivität beim Fettsäuregemisch aus Hydnocarpusöl.

Die bei den Versuchen 16, 10 und 5 erhaltenen Produkte wurden, wie auf S. 272 angegeben, einem Futter beigemengt verabreicht, welches neben einem Gemisch von 500 g Reis und Fleisch auch jeweils 20 g Schweineschmalz enthielt.

Aus den mitgeteilten Vorversuchen können Anhaltspunkte dafür gewonnen werden, daß die hauptsächlich von *Walker* und *Sweeney* geäußerten Anschauungen über den Zusammenhang zwischen *ring*förmiger Anordnung und physiologischer Wirkung beim Chaulmoograöl einer Überprüfung bedürfen.

Vielmehr dürften die vorläufigen Befunde auf einen engeren Zusammenhang zwischen *optischer Aktivität* und physiologischer Wirkung — unabhängig von der cyklischen Struktur — hinweisen.

Ob die Ergebnisse der endgültigen Prüfung auch in wirtschaftlicher Hinsicht etwa im Sinne der jüngsten Ausführungen von *Nord* und *Schweitzer*[1]) bzw. *Eisenstein*[2]) einen Einfluß ausüben werden, läßt sich im Augenblick noch nicht übersehen.

---

[1]) *F. F. Nord* und *G. G. Schweitzer*, Zeitschr. f. angew. Chem. **38**, 21, 1925.
[2]) *A. Eisenstein* in Ullmanns Enzyklopädie d. techn. Chem. **10**, 544, 1922.

Über Ionenwirkungen am Herzen.

Von

F. B. Hofmann.

(Aus dem physiologischen Institut zu Berlin.)

(Eingegangen am 3. Februar 1925.)

Die Versuche, auf denen die nachfolgenden Auseinandersetzungen fußen, sind größtenteils von Herrn Prof. *T. Sakai* in meinem Laboratorium, zum Teil von mir selbst ausgeführt und schon früher veröffentlicht worden[1]). Wenn ich jetzt nochmals auf sie zurückkomme, so geschieht es deswegen, weil ich einen Teil von ihnen neuerdings durch Herrn Dr. *Holzlöhner* mit allen Vorsichtsmaßregeln wiederholen ließ, und weil die Schlußfolgerungen, die sich aus ihnen ergeben, in den ersten Veröffentlichungen zwar schon erwähnt, aber doch nicht so stark in den Voerdergrund gerückt wurden, als sie es meiner Ansicht nach verdienen.

Ihren Ausgang nahmen unsere Versuche vom Studium der Wirkung der Na-Ionen auf das Herz. Es war nach den Versuchen von *J. Loeb*, auf die weiter unten nochmals zurückzukommen ist, bekannt, daß der normale Schlag des Herzens an ein bestimmtes Verhältnis der Konzentration an Na- und Ca-Ionen gebunden ist. Ferner wußte man seit den Untersuchungen von *Overton*, daß die Na-Ionen für die Aufrechterhaltung der Erregbarkeit des Skelettmuskels notwendig sind. Man hätte danach erwarten können, daß das Verhältnis der Na- zu den Ca-Ionen, wie es im Blute besteht, gerade das Optimum für die Herztätigkeit darstellt, und daß diese daher Schaden leiden würde, wenn man den Gehalt der Durchströmungsflüssigkeit an Kochsalz herabsetzt.

Wir haben solche Versuche zunächst am isolierten, spontan schlagenden Froschventrikel angestellt, der *dauernd* mit einem gleichmäßigen Flüssigkeitsstrom durchspült wurde, und zwar verwendeten wir 1. eine vereinfachte *Göthlin*sche Lösung mit 6 g NaCl, 0,1 g KCl, 0,065 g

[1]) *T. Sakai*, Zeitschr. f. Biol. **62**, 295, 1913; **64**, 505, 1914. *F. B. Hofmann*, ebendaselbst **66**, 293, 1915.

$CaCl_2$, 1,0 g $NaHCO_3$ und 2,85 g Traubenzucker im Liter doppelt destillierten Wassers, die wir im folgenden kurz das 6prom. Gemisch nennen wollen; 2. dieselbe Lösung, in der nur der Kochsalzgehalt auf 0,1 Proz. herabgesetzt war und zur Erhaltung der Isotonie statt 2,85 g im ganzen 31,5 g Traubenzucker zugefügt waren. Wir wollen sie kurz das 1 prom. Gemisch nennen.

Geht man von der Durchströmung mit dem 6prom. Gemisch zu der mit dem 1prom. Gemisch über, so stellt sich, aller Erwartung entgegen, eine beträchtliche Verstärkung der Kontraktionen sowie eine Frequenzzunahme ein, die durchschnittlich bis zum Dreifachen der früheren Frequenz geht. Wir haben uns nun zunächst durch Kontrollversuche davon überzeugt, daß wirklich die Änderung des Gehalts der Lösung an Na-Ionen die Ursache dieses Umschlags der Herztätigkeit ist. Indem ich bezüglich aller Einzelheiten auf die früheren Veröffentlichungen verweise, erwähne ich hier nur folgendes: Zunächst bestand der Verdacht, daß vielleicht die hohe Konzentration an Traubenzucker als übermäßige Zufuhr an Nährstoff die Erhöhung der Herztätigkeit bewirkt hatte. Wenn aber Rohrzucker in isotonischer Konzentration zugesetzt wurde, ergab der Versuch das gleiche Resultat. Ja selbst Harnstoffzusatz ergab anfänglich dasselbe wie Traubenzuckerzusatz. Nur trat dann nachträglich eine enorme Verschlechterung des Herzschlags auf, was offenbar eine Folge des allmählichen Eindringens des Harnstoffs in die Gewebe ist.

Nun bestand aber ferner die Möglichkeit, daß der Zusatz eines Nichtelektrolyten an sich schon die beschriebene Wirkung hervorgerufen haben könnte. Wir haben uns daher einleitend davon überzeugt, daß eine Änderung des osmotischen Druckes unter einer Atmosphäre den Herzschlag nicht wesentlich beeinflußt, sodann, daß die beschriebene Änderung des Herzschlags schon deutlich, wenn auch in etwas geringerem Ausmaß eintritt, wenn man zwischen einem 1- und einem 2,5prom. Kochsalzgemisch wechselt. Dann führten wir folgenden Versuch aus: Wir verglichen die Wirkung eines 1prom. NaCl-Gemisches, das einmal bloß 26,5 Prom. Traubenzucker — Lösung a, hypotonisch —, das andere Mal 34,7 Prom. Traubenzucker enthielt — Lösung b, hypertonisch —, mit der eines 2,5prom. NaCl-Gemisches mit 26,5 Prom. Traubenzucker — Lösung c, die mit b isotonisch ist. Dabei stellte sich einwandfrei heraus, daß die Erhöhung des Traubenzuckergehalts (Übergang von Lösung a zu Lösung b) nichts an der Herztätigkeit änderte, der Wechsel zwischen Lösung a und c hingegen den gewohnten Erfolg brachte. Dieser hängt also vom Kochsalzgehalt ab und nicht vom Zusatz des Nichtelektrolyten.

Ferner überzeugten wir uns auf verschiedene Weise davon, daß die Na-Ionen und nicht etwa die Cl-Ionen oder das nicht dissoziierte

Molekül das wirksame Prinzip ist. Am einfachsten geht das daraus hervor, daß wir nachweisen konnten[1]), daß man die Chloride der Ringerlösung sämtlich durch die entsprechenden Nitrate (chlorfreie Präparate von *Kahlbaum*) ersetzen kann, und daß der Ventrikel in dieser nun chlorfreien Durchströmungsflüssigkeit stundenlang kräftig weiterschlug. Also ist die Anwesenheit von Cl-Ionen überhaupt nicht notwendig, sie können auch durch andere Anionen ersetzt werden, die nicht einmal Halogenionen zu sein brauchen.

Dieser Versuch ist später von *Finkh*[2]) in etwas anderer Form wiederholt worden. *Finkh* ersetzte die Chloride durch die Bromide und fand, daß diese dasselbe leisten, während nach ihm die Nitrate das nicht vermögen. Das liegt nach ihm daran, daß die Muskelzellen des Herzens die Nitrate zu Nitriten reduzieren, und diese wirken dann schädigend auf das Herz. Daraus erklärt sich aber auch der Gegensatz zwischen den Versuchen von *Sakai* und *Finkh*. *Finkh* verwendete nämlich die *Straub*sche Methode, d. h. bei ihm stagnierte die Lösung, sobald sie eingeführt war, längere Zeit im Ventrikel. Während dieser Zeit kann die Anreicherung derselben an Nitriten so weit gehen, daß ihre schädigende Wirkung merklich wird. Läßt man aber, wie *Sakai* es tat, die Flüssigkeit dauernd abfließen, so fällt dieser Nebenumstand weg. Der Hauptpunkt, daß nämlich die Halogene für den Herzventrikel durch Nitrate voll ersetzt werden können, wird demnach durch *Finkhs* Versuche nicht widerlegt.

Eine weitere Möglichkeit, an die nach den älteren Versuchen von *Mines*[3]), *Dale* und *Thaker*[4]) und den neueren von *Atzler* und *Müller*[5]) gedacht werden mußte, war eine eventuelle Mitbeteiligung einer Änderung der Wasserstoffionenkonzentration. Herr Dr. *Holzlöhner* hat deswegen die Versuche von *Sakai* noch einmal unter genauer Messung der Wasserstoffionenkonzentration wiederholt und wird an anderer Stelle ausführlicher darüber berichten. Summarisch ergab sich, daß die Zunahme der Schlagfrequenz und der Kontraktionshöhe beim Übergang vom 6- zum 1prom. Gemisch in der gewöhnlichen Weise auch auftritt, wenn die Messung mittels der Gaskette gleiche Konzentration an Wasserstoffionen in beiden ergab, ja sogar, wenn die Konzentration an Wasserstoffionen im 1prom. Gemisch absichtlich größer gemacht wurde als im 6prom. Gemisch. Nur war im letzteren Falle die Wirkung des 1prom. Gemisches abgeschwächt, entsprechend der von *Atzler* und *Müller* angegebenen Wirkung des erhöhten Wasserstoffionengehalts, welche der Herabsetzung des Na-Ionengehalts entgegenwirken muß.

---

[1]) *T. Sakai*, Zeitschr. f. Biol. **64**, 38. 1914.
[2]) *Finkh*, diese Zeitschr. **116**, 262, 1921.
[3]) *G. R. Mines*, Journ. of Physiol. Proceed. S. 13, 1913.
[4]) *D. Dale* und *Thaker*, Journ. of Physiol. **47**, 493; Proceed., S. 1, 1913.
[5]) Pflügers Arch. **207**, 1, 1925.

Geht man mit der Konzentration an Na-Jonen noch weiter herunter, wobei zu berücksichtigen ist, daß in der Lösung außer dem Kochsalz noch 1 Prom. $NaHCO_3$ enthalten ist, so tritt jetzt allerdings eine Abnahme der Kontraktionsstärke und eine Abnahme der Schlagfrequenz auf. Sie wird bedeutend, wenn man das Kochsalz ganz wegläßt, und noch stärker, wenn man auch die Konzentration an $NaHCO_3$ auf die Hälfte herabsetzt. Es treten dann lange Ruhepausen in der Ventrikeltätigkeit auf und schließlich steht er ganz still. Gleichzeitig treten immer deutlicher die Erscheinungen auf, die man auch erhält, wenn man den Gehalt der normalen Ringerlösung an $CaCl_2$ erhöht, die sogenannte „unkompensierte“ Calciumwirkung. Die ganze Versuchsreihe paßt also gut hinein in die allgemeine Lehre *J. Loebs* von den äquilibrierten Salzlösungen[1]). *J. Loeb* hat bekanntlich festgestellt, daß die Zuckungen, die ein Froschartorius beim Einlegen in Lösungen von Natriumsalzen ausführt, nur dann auftreten, wenn eine genügende Konzentration an Calcium im Muskel vorhanden ist. Bei Abwesenheit von Ca-Salzen verursachen die Na-Salze keine rhythmischen Zuckungen, und wenn man zuviel Calcium hinzufügt, hören die Zuckungen ebenfalls auf. *J. Loeb* schloß daraus, daß die spontanen Zuckungen des Skelettmuskels nur dann auftreten, wenn das Verhältnis $C_{Ca} : C_{Na}$ sich innerhalb gewisser Grenzen halte, und er und *Lingle* haben diese Annahme auch auf das Herz übertragen.

Ähnlich wie die Na-Salze wirken nun auch die K-Salze auf die Automatie. In sehr geringer Konzentration erzeugen sie sowohl am Skelettmuskel wie am Herzen rhythmische Kontraktionen, in etwas höherer Konzentration wirken sie lähmend. Läßt man die K-Salze aus der Ringerlösung ganz weg, so bleibt nach *Böhm*[2]) das ganze Froschherz, nach *Sakai*[3]) auch der isolierte Ventrikel schließlich sogar stillstehen. Während demnach auf der einen Seite die Anwesenheit von K-Salzen für die spontane Herztätigkeit notwendig ist, setzen sie sie in höherer Konzentration herab. Wir müssen daher die Formel noch dahin ergänzen, daß außer den Na- und Ca-Ionen noch die K-Ionen darin vorkommen, die ebenfalls den Ca-Ionen entgegenwirken. Nehmen wir mit *J. Loeb* an, die Wirkung der Na- und K-Ionen addiere sich, so würde die Formel lauten:

$$C_{Ca} : (a\, C_{Na} + b\, C_K).$$

a und *b* sind Multiplikationsfaktoren, die hinzugefügt werden müssen, weil die wirksamen Konzentrationen an K-Ionen ganz anders sind als

---

[1]) Vgl. die Zusammenfassung mit Literatur in: Dynamik der Lebenserscheinungen 1906, S. 120 ff und in Oppenheimers Handb. d. Biochem. **2**, 1, S. 124, 1909.

[2]) *R. Boehm*, Arch. f. exper. Pathol. **75**, 285, 1914.

[3]) *T. Sakai*, Zeitschr. f. Biol. **64**, 513, 1914.

die der Na-Ionen. Die angeschriebene Formel würde etwa die auch von *J. Loeb* und seinen Schülern, von *Clark*[1]) u. a. angenommenen Verhältnisse wiedergeben.

Dazu ist allerdings zu bemerken, daß die Wirkung der Salze, sei es auf die Höhe, sei es auf die Frequenz der Kontraktionen, nicht ausschließlich von ihrem gegenseitigen Verhältnis, sondern außerdem noch von der absoluten Konzentration abhängt, d. h. die Wirkung bleibt nicht die gleiche, wenn man die Konzentration der Salze im gleichen Verhältnis abändert und dabei für Aufrechterhaltung der Isotonie sorgt. Wir verdünnten etwa das 6prom. Gemisch auf das Sechsfache und sahen dann ähnliche, nur nicht so starke Veränderungen, wie beim Übergang zum 1prom. Gemisch. Da in diesem Falle das Herz K und Ca abgibt, variierten wir den Versuch so, daß wir zu 5prom. NaCl das Fünffache an Ca und K hinzufügten und die Wirkung dieser Lösung mit ihrer fünffachen Verdünnung verglichen. Auch hierbei zeigte sich derselbe Erfolg einer Verstärkung und Erhöhung der Schlagfrequenz. Es kommt also auch auf die absolute Konzentration der Salze an, und der Faktor, der hier maßgebend ist, dürfte die Konzentration an Salzen im Gewebe sein. Die Salze in der Durchströmungsflüssigkeit treten ja nicht in Wechselbeziehung zu sich allein, sondern sie wirken auf das Gewebe ein. In diesem aber wird offenbar eine bestimmte Konzentration an Salzen möglichst innegehalten (s. unten!), und das kommt in den Versuchen darin zum Ausdruck, daß eben eine bestimmte absolute Konzentration an Salzen bevorzugt ist. Man wird diese bevorzugte Konzentration am besten als das *Optimum* bezeichnen, das nach dem Gesagten aber auch bei gleichbleibendem Verhältnis der drei Ionenarten verschieden sein kann. Ferner hat das Optimum meist — wenigstens für die Na- und Ca-Ionen trifft das zu — eine gewisse Breite, erst größere Änderungen zeigen eine deutliche Wirkung.

Während vorher Versuche mit Herabsetzung des Kochsalzgehalts unter Erhaltung der Isotonie nicht ausgeführt worden waren, veröffentlichte zu gleicher Zeit mit *Sakai* auch *Clark* derartige Versuche am Froschherzen, gab aber an, daß eine Verminderung des Kochsalzgehalts auf 0,32 Proz. am ganzen Froschherzen die Schlagfrequenz herabsetzt, und das gleiche fanden *Clark* und *Böhm* bei einer Erhöhung des Calciumgehalts. Wir sind diesem Gegensatz später nachgegangen und konnten an ein und demselben Herzen feststellen, daß in der Tat eine Herabsetzung des NaCl-Gehalts oder eine Vermehrung des $CaCl_2$-Gehalts der Durchströmungsflüssigkeit innerhalb gewisser Grenzen am ganzen Herzen eine geringe Abnahme der Frequenz bewirkt, während dieselbe Veränderung am isolierten Ventrikel eine Zunahme der Schlag-

[1]) *Clark*, Journ. of Physiol. 47, 66, 1913.

frequenz bis auf das Dreifache hervorruft. Zwischen dem Verhalten der Automatie des Sinus und des Ventrikels besteht also ein anscheinend durchgreifender Unterschied, auf den übrigens schon *J. Loeb* hingewiesen hat.

Die Frage klärte sich noch mehr, als wir zu Versuchen am Säugetierherzen übergingen. Am Kaninchen-, Katzen- und an einem Affenherzen fand ich, daß eine Abnahme des Kochsalzgehalts der Durchströmungsflüssigkeit von 0,9 auf 0,6 Proz. am Ventrikel nach Durchschneidung des *His*schen Bündels nur die Kontraktionsstärke etwas erhöht, die Schlagfrequenz aber so gut wie unverändert läßt. Die weitere Verminderung des Kochsalzgehalts auf 0,2 bis 0,3 Proz. setzt aber auch die Schlagfrequenz beträchtlich herab. Bei einer individuell etwas verschiedenen Grenze, die nahe an 0,2 Proz. liegt, tritt dann schließlich Ventrikelstillstand auf. Noch leichter als am spontan schlagenden Ventrikel tritt ein solcher Stillstand an den Vorhöfen auf. Es kann als Regel gelten, von der ich nur eine Ausnahme sah, daß bei einer Herabsetzung des Kochsalzgehalts der *Locke*schen Lösung auf 0,2 bis 0,3 Proz. unter Erhaltung der Isotonie zuerst die Vorhöfe stillstehen, während die Ventrikel noch stundenlang weiterschlagen. Am Säugetierherzen wird also durch die Herabsetzung des Kochsalzgehalts sowohl die Automatie des Ventrikels wie die des Sinusknotens geschädigt, nur die des Sinus stärker als die des Ventrikels. Es ist daher anzunehmen, daß es sich auch beim Froschherzen nur um graduelle Unterschiede zwischen der Sinus- und Ventrikelautomatie handelt. In der Tat braucht man zur Erklärung bloß anzunehmen, daß das Optimum der Kochsalzkonzentration für den Sinus des Froschherzens beträchtlich höher liegt als für den Ventrikel, nämlich etwa beim normalen Kochsalzgehalt des Blutes, für den Ventrikel aber bei einem ganz niedrigen Kochsalzgehalt. Das Optimum für den Sinusknoten und für den Ventrikel des Säugetierherzens unterscheiden sich nur wenig voneinander. Für den Sinusknoten dürfte es mit dem normalen Kochsalzgehalt des Blutes zusammenfallen, für den Ventrikel wohl etwas, aber nur ganz wenig, unter ihm liegen. Damit stimmen auch die Calciumversuche überein. Herabsetzung des Na-Gehalts ist ja gleichbedeutend mit verstärkter Calciumwirkung, die man auch durch Erhöhung des Calciumgehalts der Durchströmungsflüssigkeit herbeiführen kann. Das Ergebnis der Froschversuche habe ich schon angeführt. Am spontan schlagenden Säugetierventrikel fand ich, daß die Schlagfrequenz noch etwas zunahm, wenn man den Gehalt der Durchströmungsflüssigkeit an $CaCl_2$ über den normalen von 0,18 Proz. hinaus erhöht. Das wie gewöhnlich sehr breite Optimum dürfte bei etwa 0,3 Proz. liegen, also etwas *über* dem normalen Gehalt. Am ganzen Herzen liegt nach den Versuchen von *Rutke-*

witsch[1]) das Optimum bei etwa 0,1 Prom., bei 0,2 Prom. ist schon eine deutliche Abnahme der Schlagfrequenz vorhanden. Anders ausgedrückt: Die Bedingungen für die spontane Schlagfolge sind bei dem Gehalt des Blutserums an anorganischen Salzen für den Säugetierventrikel etwas schlechter als für den Sinusknoten und besonders schlecht für den Ventrikel des Froschherzens, während sie für den Sinus des Froschherzens wiederum sehr günstig sind. Darauf beruhen auch die Erscheinungen, die man beobachtet, wenn man die Erregungsleitung vom Sinus zum Ventrikel unterbricht. Der Stillstand des Ventrikels nach der ersten *Stannius*schen Ligatur ist am Froschherzen sehr lang, so lang, daß sich ganz unkontrollierbare Nebenumstände, wie z. B. mangelhafte Sauerstoffzufuhr und ähnliches störend einmischen können. Bei Durchströmung des Froschherzens mit dem 1 prom. NaCl-Gemisch wird er kürzer, und er verschwindet unter günstigen Versuchsbedingungen bis auf eine kurze „präautomatische Pause" ganz[2]). Beim Säugetierherzen ist die präautomatische Pause nach der Durchschneidung des *His*schen Bündels normalerweise sehr kurz, ganz entsprechend dem geringen Unterschied in der Wirkung des normalen Salzgehalts des Blutes. Es ist sogar zu erwarten, daß eine geringe Erhöhung des Ca-Gehalts über die Norm hinaus das Vortreten der Ventrikelautomatie noch mehr begünstigen, vielleicht sogar unter besonderen Umständen zum Auftreten ventrikulärer Extrasystolen Anlaß geben kann. Das wäre allerdings nur dann anzunehmen, wenn schon aus anderen Gründen ein besonderer Reizzustand des Ventrikels gegeben ist. Denn die eigentlichen Erreger der Automatie, die „inneren Herzreize", sind meiner Ansicht nach weder die Na- noch die Ca- oder K-Ionen. Diese stellen bei passender Konzentration bloß eine der Teilbedingungen dar, unter denen die inneren Herzreize zur Geltung kommen. Darin aber, daß dieses Milieu dem Bedürfnis des Organismus nach einer geregelten Aufeinanderfolge des Schlages der einzelnen Herzteile angepaßt ist, liegt die biologische Bedeutung der normalen Salzmischung.

Was nun den Mechanismus der Wechselwirkung der Na-, K- und Ca-Ionen mit den Bestandteilen des Gewebes betrifft, wobei auch die Änderung der Wasserstoffionenkonzentration an und in den Zellen mit zu berücksichtigen ist, so soll von den hier auftauchenden Fragen, die ja bereits vielfach und von den verschiedensten Seiten diskutiert worden sind, nur *eine* besprochen werden, die mit unseren Versuchen ganz unmittelbar zusammenhängt. Für die Erklärung der gegensätzlichen Wirkung der Ionen unter und über dem Optimum ihrer Kon-

---

[1]) Pflügers Arch. **129**, 487, 1909.
[2]) *F. B. Hofmann*, Zeitschr. f. Biol. **72**, 229, 1920.

zentration hat man sich allgemein der Ansicht von *J. Loeb* angeschlossen, daß es sich dabei um eine „Giftwirkung“ handle, und daß durch den Zusatz der antagonistisch wirkenden Ionen eine „Entgiftung“ herbeigeführt werde. Es erscheint mir etwas schwierig, diese Anschauung auch auf das Herz zu übertragen. Wenn das Optimum der Konzentration an NaCl für den Froschventrikel weit unter dem normalen Kochsalzgehalt des Blutes liegt, der Ventrikel also zeitlebens unter NaCl-Überschuß schlägt, so geht es wohl nicht an, hier von einer Giftwirkung zu sprechen. Man sollte vielmehr eher den vorsichtigeren Ausdruck wählen, daß die Na-Ionen im Überschuß die Automatie hemmen, während sie sie in niedrigeren Konzentrationen fördern. Dasselbe würde aber auch für die Ca- und wohl auch für die K-Ionen gelten[1]. Überhaupt aber dürfte man kaum von einer einheitlichen Wirkung jeder dieser Ionen sprechen, sondern müßte dabei immer in Rechnung setzen, in welchem Niveau sich die Konzentration bzw. die Konzentrationsänderung bewegt. Das gilt noch mehr, wenn man die Unterschiede zwischen den einzelnen Herzteilen mit in Betracht zieht. Da kann die Wirkung einer und derselben Konzentrationsänderung geradezu eine gegensätzliche sein, wie sich aus dem angeführten Unterschied in der Wirkung einer Herabsetzung des Na-Gehalts unter oder einer Erhöhung des Ca-Gehalts über den normalen an Sinus und Ventrikel des Froschherzens unmittelbar ergibt.

J. Loeb hatte die giftige Wirkung, die eine reine Kochsalzlösung auf Funduluseier ausübt, daraus erklärt, daß die zur Entwicklung notwendigen K- und Ca-Salze durch die Massenwirkung des NaCl aus den Eiern verdrängt werden. Wäre das in vollem Umfang auch am Herzen der Fall, würden also die Muskelzellen des Herzens ihren Salzgehalt uneingeschränkt mit dem des Blutes ins Gleichgewicht setzen, so müßte schließlich ein Endzustand erreicht werden, in dem zwar die Salzkonzentration im Gewebe vielleicht eine andere wäre als im Blute, aber doch im ganzen Herzen gleichmäßig sein müßte. Dieser an sich schon unwahrscheinlichen Annahme widersprechen außerdem direkt die neueren Angaben von *Fr. Kraus, Wollheim* und *S. Zondek*[2], die am Frosch- und Meerschweinchenherzen den K- und Ca-Gehalt der Vorhofsmuskulatur höher fanden als den der Kammermuskeln. Ein solcher dauernder Unterschied könnte nicht bestehen, wenn ein freier Austausch zwischen Blut und Gewebe möglich wäre. Es ist daher anzunehmen, was schon *E. G. Martin*[3] und *Burridge*[4]

[1] Über letztere siehe die Einzelheiten (mit Literatur) bei *F. B. Hofmann*, Zeitschr. f. Biol. **66**, 319, 1915.
[2] *Fr. Kraus, Wollheim* u. *S. G. Zondek*, Klin. Wochenschr. 1924, S. 735.
[3] *E. G. Martin*, Amer. Journ. of Physiol. **16**, 191, 1906.
[4] *Quat. Burridge*, Journ. of Physiol. **5**, 369, 1912.

für das Herz behaupteten und *Mitchell* und *Wilson*[1]) sowie *Neuschlosz* und *Trelles*[2]) für das K im Skelettmuskel nachwiesen, daß ein Teil der Salze im Gewebe fester gebunden ist als ein anderer. Allerdings fanden das *Neuschlosz* und *Trelles* nur unter Bedingungen, die mit denen im normalen Herzen nicht zu vergleichen sind.

Man wird nicht meinen, daß dieser fester gebundene Anteil ganz unveränderlich ist. Er zeigte ja auch nach *Neuschlosz'*[3]) weiteren Untersuchungen Schwankungen bei „Erregungskontrakturen". Er dürfte ja wohl auch mit dem leichter austauschbaren Teil in Wechselwirkung treten, die vielleicht irgendwie an die Funktion gebunden ist. Wenn man annimmt, daß dieser fester gebundene Anteil in den einzelnen Herzabschnitten, insbesondere auch an den einzelnen Stellen des Reizleitungssystems mit verschiedener Konzentration, aber auch, wie schon *Burridge* meinte, in verschiedener Weise gebunden ist, dann könnte man sich wohl denken, daß durch eine Änderung der Konzentration der Salze in der Umgebungsflüssigkeit nicht in jedem Herzteil der gleiche, sondern ein je nach der Art der Bindung verschiedener Einfluß auf die Funktion ausgeübt wird.

Zusammenfassung.

Aus den Versuchen von *Sakai* und aus eigenen Experimenten an Frosch- und Säugetierherzen mit Variation des Na-, K- und Ca-Gehalts der Durchströmungsflüssigkeit wird geschlossen, daß das Optimum der Konzentration an Na-Ionen für die Automatie des Froschventrikels weit unter dem Gehalt des Blutes an Na-Ionen liegt, während beide für den Venensinus ungefähr zusammenfallen. Am Säugetierherzen ist der Unterschied geringer, das Optimum liegt für den Sinusknoten ebenfalls bei der Konzentration der Salze im Blute, für den Ventrikel aber bei einem etwas höheren Gehalt an Ca. Dadurch erklären sich die Unterschiede im Auftreten der Ventrikelautomatie nach der funktionellen Abtrennung des Ventrikels vom Sinus beim Frosch- und Säugetierherzen. Zum Schluß werden die Folgerungen besprochen, die sich aus diesen Versuchen im Zusammenhang mit der Lehre *J. Loebs* von den äquilibrierten Salzlösungen ergeben.

---

[1]) *Mitchell* und *Wilson*, Journ. of gen. Physiol. **4**, 45, 1921.
[2]) *S. M. Neuschlosz* und *Trelles*, Pflügers Arch. **204**, 374, 1924.
[3]) *Neuschlosz*, l. c.; Pflügers Arch. **207**, 27 und 37, 1925.

Bestimmung von Geruchsschwellen.

Von

F. B. Hofmann und **Arnt Kohlrausch.**

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 3. Februar 1925.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Bei der Feststellung des *Minimum perceptibile von Riechstoffen in absoluten Zahlen*[1]) ist man durchweg von wägbar großen Mengen der Substanz ausgegangen; sie wurden dann mit Luft oder einem geruchlosen Lösungsmittel so weit verdünnt, bis der Geruch eben noch wahrnehmbar war. Ein Nachteil dieses Vorgehens ist, daß bei stark riechenden Substanzen ganz außerordentlich weitgehende Verdünnungen erforderlich werden.

Ob *Henning* bei seiner „Volumenmethode“ prinzipiell anders verfährt, d. h. ob er *nicht* von abgewogenen Substanzmengen ausgeht, ist aus seiner Veröffentlichung[2]) nicht zu entnehmen. Er sagt: „Ein durch Sperrflüssigkeit abgeschlossenes Maßrohr (Bürette) genügt schon“ als Apparat, und beschreibt dann eine der üblichen Büretten zur Gasvolumetrie mit Niveaurohr und Niveaugefäß; ein Wassermantel mit Luftgebläse als Rührer sorgt für Temperaturkonstanz, als Sperrflüssigkeit dient Wasser, Glycerin, meist jedoch Quecksilber. Das oben mit Hahn versehene Meßrohr „dient zur Aufnahme des Riechgases“; *Henning* schreibt darüber: „Die Füllung des Riechrohres gestaltet sich überaus bequem: während die Sperrflüssigkeit bis an den Hahn steht und dieser offen ist, bringt man das Riechgas an den Hahn, senkt das Quecksilbergefäß, so daß alle Quecksilbersäulen fallen und das Riechrohr das riechende Gas einsaugt. Dabei hat man es völlig in der Hand, ob man chemisch reines oder mit Luft in beliebiger

---

[1]) Literatur bei *H. Zwaardemaker*, Abderhaldens Handb. V, 7, 478; *H. Henning*, „Der Geruch“, 2. Aufl., S. 400 (Verlag Joh. Ambr. Barth). Alle die Apparaturen, welche lediglich dem *relativen* Vergleich von Geruchsschwellen dienen, wie z. B. die Olfaktometer *Zwaardemakers* mit Riechzylindern, bleiben hier außer Betracht.

[2]) *H. Henning*, a. a. O., S. 409.

Konzentration verdünntes Riechgas verwenden will." Gerochen wird am Hahnansatz des Meßrohres. Nähere Angaben fehlen darüber, wie die Ausgangsmenge des chemisch reinen Riechgases festgelegt wird, ob durch Wägung oder wie sonst. Beschrieben wird danach nur noch eine Vorrichtung zur Reaktionszeitmessung.

Bei im hiesigen Institut geplanten quantitativen Versuchen über den Geruchssinn sollten vor allem die starken Verdünnungen vermieden werden, die beim Ausgehen von wägbaren Substanzmengen nötig werden; und außerdem sollten die Fehler durch die unvermeidliche Adsorption des Riechstoffes möglichst ohne Einfluß auf das Ergebnis bleiben. Will man die Ausgangsmenge des Riechstoffs nicht durch Wägung definieren, so ist es am einfachsten, den *gesättigten Dampf des reinen, von Lösungsmitteln freien Riechstoffs* zugrunde zu legen. Denn wenn ein trockener lufterfüllter Raum bei Atmosphärendruck und bestimmter Temperatur mit dem Dampfe eines reinen Riechstoffs gesättigt ist, so ist das Volumenverhältnis von Dampf zu Luft in diesem Raume festgelegt durch das Verhältnis des Partialdrucks des Dampfes (Sättigungsdruck bei gegebener Temperatur) zum Gesamtdruck (Barometerstand). Man hat damit ein wohldefiniertes Substanz-Luftgemisch als Ausgangspunkt, das man nur noch verhältnismäßig wenig weiter mit Luft zu verdünnen braucht, um die Schwelle zu erreichen.

Diese Überlegung liegt dem Riechmesser zugrunde, dessen Bau und Handhabung wir im folgenden beschreiben. Die Abmessung und Verdünnung des Riechgases geschieht, ähnlich wie bei *Henning*, nach dem bekannten volumetrischen Verfahren der quantitativen Gasbestimmung. Über die mit dem Apparat ausgeführten Untersuchungen wird Herr Dr. *Mitsumoto* berichten.

Versuchsanordnung.

Prinzip: Von dem gesättigten Dampf des Richstoffs wird ein abgemessenes Volumen meßbar mit Luft verdünnt und diese Verdünnung dann in die Nase geblasen; in wiederholten Versuchen sucht man diejenige Verdünnung auf, die eine eben noch wahrnehmbare Geruchsempfindung auslöst. Unter Berücksichtigung von Versuchstemperatur und Barometerstand ergibt sich aus dem Sättigungsdruck, der Dampfdichte und dem Verdünnungsgrad der Substanz die Schwellenkonzentration, ausgedrückt in Gramm Riechstoff pro Kubikzentimeter Luft.

Die Versuchsanordnung[1]) geht aus der Abbildung hervor. In dem Vorratsrohr V befindet sich der gesättigte Dampf der riechenden Substanz, der in dem Meßrohr M abgemessen und verdünnt und durch die Oliven O in beide Nasenlöcher geleitet wird.

---

[1]) Der Apparat ist von Bleckmann u. Burger, Berlin N. 24, Auguststr. 3a, gebaut. Preis etwa 45 M ohne Quecksilber.

Das Vorratsrohr V von 60 cm Länge faßt etwa 370 ccm Inhalt. Sein oberes Ende ist zum bequemen Einbringen des Riechstoffs abnehmbar. Beide Teile werden am Schliff durch Federn fest zusammengehalten. Das Meßrohr M von 80 cm Länge faßt 100 ccm und ist in fünftel Kubikzentimeter geteilt. Die Teilung beginnt in der Kapillare 5 unmittelbar am Hahn H_3 mit Null, damit zwischen H_3 und dem Teilungsbeginn kein toter Raum bleibt.

V und M sind mittels Gummischläuchen mit den Niveaugefäßen N_1 und N_2, verbunden; Sperrflüssigkeit ist Quecksilber.

Die unteren Hähne H_1 und H_4 sind einfach durchbohrt und durch Gummiringe gegen Quecksilberdruck gesichert. Die oberen Hähne H_2 und H_3 sind Dreiweghähne, deren 3 Kapillaren je 120° voneinander entfernt stehen. Die zwei Öffnungen der gekrümmten Hahnbohrung haben gleichfalls 120° Abstand, so daß man je 2 der 3 Kapillaren durch den Hahn verbinden oder den Hahn durch Stellung auf die Zwischenräume schließen kann.

Die Kapillaren 1 und 5 sind an die Büretten angeschmolzen, 2 und 6 gehen in die Außenluft, 3 und 4 verbinden die beiden Büretten miteinander. Die Kapillaren 3 und 4 stoßen mit abgeschliffenen Enden Glas an Glas und werden durch ein übergezogenes Schlauchstück zusammengehalten. Die Nasenoliven O werden mit Schliff auf 6 aufgesetzt. Sämtliche Schliffe bleiben am zweckmäßigsten trocken, ohne jedes Schmiermittel.

Die Büretten stehen an schweren Stativen auf dem Fußboden in einem flachen Kasten zum Sammeln überspritzenden Quecksilbers. Sie sind so hoch befestigt, daß sich die Oliven in Nasenhöhe der sitzenden Versuchsperson befinden. Die Niveaugefäße hängen an Schnüren und können in beliebiger Höhe fixiert werden. Apparatur, Thermometer und Barometer sind in einem leicht zu lüftenden Raum untergebracht.

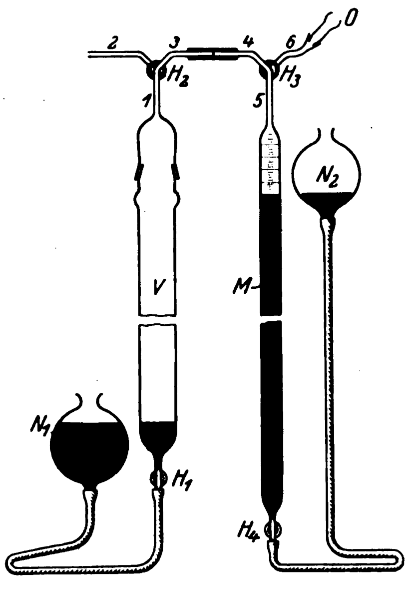


Abb. 1.

Versuchsausführung.

Das Vorratsrohr V wird mit einer zur Sättigung ausreichenden Menge Riechsubstanz beschickt, wobei das Quecksilberniveau in N und V tief am unteren Bürettenende kurz oberhalb H_1 steht. Dann bleibt das Vorratsrohr bei geschlossenem Hahn H_2 und geöffnetem H_1 unter Atmosphärendruck so lange, am bequemsten über Nacht stehen, daß es mit Sicherheit gesättigten Dampf enthält. Eine Füllung von V (370 ccm) reicht zu etwa 50 Riechversuchen aus.

Untersuchungsgang. Vor, während und nach den eigentlichen Beobachtungen Ablesen von Temperatur und Barometerstand.

Entnahme von Dampf aus V. 1. Ausgleich der Quecksilberniveaus in N_1 und V (damit steht V unter Atmosphärendruck). 2. Stellung der Hähne H_4, H_3, H_2 so, daß N_2 durch M, 5, 4, 3, 2 mit Außenluft kommuniziert. 3. Füllung dieser ganzen Rohrleitung von M bis 2 unter Vermeidung von Luftblasen mit Quecksilber durch vorsichtiges Heben von N_2 (jeder tote Luftraum zwischen V und M ist dadurch beseitigt). 4. H_2 schließen, N_2 um einige Kubikzentimeter unter H_3 senken und 1 mit 3 durch H_2 verbinden, so daß jetzt V mit M kommuniziert und der gesättigte Dampf nach M übertritt; gleichzeitig N_1 zum Druckausgleich heben. 5. Abmessen der gewünschten Anzahl Kubikzentimeter Dampf in M, wobei sowohl N_1 mit V wie N_2 mit M auf gleiches Quecksilberniveau eingestellt werden muß, damit der Dampf unter Atmosphärendruck steht; dann H_3 schließen.

Verdünnung des Dampfes. 1. N_2 senken, dann erst 5 mit 6 durch H_3 verbinden; es tritt Außenluft nach M über, ohne daß von dem abgemessenen gesättigten Dampf etwas nach außen entweichen kann. 2. Abmessen des Gesamtvolumens (Dampf + Luft), wobei N_2 mit M auf gleichem Quecksilberniveau steht; H_3 schließen. 3. Gutes Durchmischen der Probe in M durch mehrmaliges rasches Heben und Senken von N_2 bei fest geschlossenem H_3.

Riechversuch. N_2 heben, Oliven aufsetzen und mit den Nasenlöchern der Versuchsperson verbinden. Dann nach einem Signal 5 mit 6 durch H_3 verbinden und N_2 weiter heben: das Riechgas strömt mit mäßigem Überdruck in die Nase.

Nach einiger Übung dauert ein Riechversuch bei sorgfältigem Abmessen der Volumina etwa 3 Minuten. In wiederholten Versuchen stellt man im auf- und absteigenden Verfahren oder durch systematisches Einkreisen mit abwechselnd stärkeren und schwächeren Verdünnungen die eben wahrnehmbare Dampfkonzentration fest. Zweckmäßigerweise werden der Versuchsperson zunächst mit einigen Versuchen bei abwechselnd sicher unterschwelligen (z. B. reiner Luft) und deutlich, aber nicht zu stark merkbaren Konzentrationen die zu unterscheidenden Empfindungen vorgeführt, besonders dann, wenn man nicht auf die generelle, sondern die spezifische Erkennungsschwelle einstellen will. Bei den eigentlichen Beobachtungen wird die Versuchsperson über die Verdünnungsgrade und ihre Reihenfolge im unklaren gelassen, sie hat nur anzugeben, ob sie etwas gerochen hat oder nicht.

Man könnte versucht sein, nach Beendigung der Beobachtungen das Quecksilberniveau in V mittels N_1 wieder zu senken, um den V entnommenen Dampf durch neue Verdunstung zu ersetzen. Das empfiehlt sich nicht, denn dabei kann mit Riechstoff verunreinigtes Quecksilber durch den Schlauch nach N_1 steigen, wodurch die Zimmerluft mit Riechstoff verunreinigt und eine Säuberung der ganzen Apparatur erforderlich wird.

Berechnung: Durch die Schwellenbestimmungen ist festgestellt, wie stark der gesättigte Dampf des Riechstoffs verdünnt werden muß, um eine eben wahrnehmbare Geruchsempfindung auszulösen. Diese Schwellenkonzentration muß jetzt in Gramme Riechstoff pro Kubik-

zentimeter Einatmungsluft umgerechnet werden. Das ist mit Hilfe des Sättigungsdrucks und der Dampfdichte (spezifisches Gewicht) des Riechstoffs möglich.

Der Sättigungsdruck der Riechsubstanz bei der Versuchstemperatur wird am bequemsten einer Temperaturkurve des Sättigungsdrucks entnommen, die man für viele Substanzen nach Tabellen von *Landolt-Börnstein* zeichnen kann.

Das Verhältnis des Sättigungsdrucks zum Gesamtdruck (Barometerstand) gibt das Volumenverhältnis von reiner Riechsubstanz zu Zimmerluft im Vorratsgefäß an. Dieses ist mit dem Verdünnungsverhältnis im Meßrohr und dem spezifischen Gewicht des reinen Substanzdampfes zu multiplizieren.

Ist p der Sättigungsdruck der Riechsubstanz, P der Barometerstand (beides in Millimeter Hg), ferner v das abgemessene Volumen des gesättigten Dampfes, V das Gesamtvolumen (gesättigter Dampf + Verdünnungsluft), beides in Kubikzentimetern, und s das spezifische Gewicht des reinen Substanzdampfes unter Normalbedingungen, so ist $\frac{p \cdot v \cdot s}{P \cdot V}$ die Anzahl Gramm-Substanz im Kubikzentimeter Luft.

Das spezifische Gewicht s des reinen Dampfes erhält man aus dem Molekulargewicht M der Substanz zu $s = \frac{M}{22{,}4 \cdot 1000}$.

Bei Dissoziation oder Polymerisation des Dampfes ist das entsprechende Molekulargewicht zu nehmen.

Da nur mit dem *Verhältnis* der Volumina gerechnet wird, ist ihre Reduktion auf Normalbedingungen überflüssig, denn der konstante Faktor im Zähler und Nenner fällt heraus. Die Reduktion auf den Normalzustand ergibt sich durch die Berechnung des spezifischen Gewichts aus dem Mol-Volumen 22,4 Liter.

Versuchsbeispiel. Datum: 28. Januar 1925. Versuchsperson: Herr Dr. *vom Hofe.* Riechstoff: natürlicher Campher. Eingestellt wurde die spezifische Erkennungs-, nicht die generelle Reizschwelle.

Temperatur 14° C; korr. Barometerstand 758 mm Hg.

Schwellenbestimmung:

Gesättigter Campherdampf ccm	Gesamtvolumen von Campherdampf + Zimmerluft ccm	Wird erkannt
0	100	—
0,5	100	—
1	100	—
2	100	+
3	100	+
2	100	+
1	100	—

Erkennungsschwelle zwischen 1 : 100 und 2 : 100. Sättigungsdruck des Camphers bei 14° C $p = 0{,}12$ mm Hg. Spezifisches Gewicht von reinem Campherdampf unter Normalbedingungen $s = \frac{152}{22400} = 0{,}0068$

$$\frac{p \cdot v \cdot s}{P \cdot V} = \frac{0{,}12 \cdot 2 \cdot 0{,}0068}{758 \cdot 100} = 22 \cdot 10^{-9}\,\text{g pro ccm Luft.}$$

Die Geruchsschwelle liegt auch bei normalen Versuchspersonen individuell sehr verschieden hoch; wir fanden die Erkennungsschwelle für natürlichen Campher bei

				pro ccm Luft
Herrn Dr.	*vom Hofe*	zwischen	11	und $22 \cdot 10^{-9}$ g
„ „	*Mitsumoto*	„	22	„ $33 \cdot 10^{-9}$ g
„ „	*Arnt Kohlrausch*	„	2	„ $4 \cdot 10^{-9}$ g

J. Passy[1]) gibt die Schwelle an bei $5 \cdot 10^{-9}$ g
Zwaardemaker[1]) gibt die Schwelle an bei $0{,}016 \cdot 10^{-9}$ g

Reinigung der Versuchsanordnung.

Darauf ist besondere Sorgfalt zu verwenden, wie stets bei Geruchsversuchen. Der Apparat muß außen ganz geruchlos sein, speziell ist auf das Vorratsrohr V samt Hähnen und Schliff zu achten, und ebensowenig darf irgend ein Geruch wahrnehmbar sein, wenn aus dem Meßrohr reine Zimmerluft durch die Oliven in die Nase geleitet wird. Die Oliven werden am bequemsten ausgekocht und dann im Luftstrom getrocknet; wir verwenden zu jeder Versuchsserie einer Schwellenbestimmung frisch ausgekochte und getrocknete Oliven. Von Büretten, Hähnen, Gummischläuchen und Niveaugefäßen entfernt man die Hauptmenge des Riechstoffs mit einem passenden Lösungsmittel. Die letzten Geruchsspuren sind durch Bestrahlung mit einer kräftigen Quarzlampe sicher zu beseitigen. Das Quecksilber kann ebenso oder durch Erhitzen in einer sauberen Porzellanschale auf etwa 150° unter Umrühren gereinigt werden. Diese Säuberung ist selbstverständlich vor jeder Neufüllung des Vorratsgefäßes nötig; aber außerdem, sobald der Apparat außen riecht bzw. Zimmerluft aus M nicht geruchlos ist. Die beiden letzteren Störungen sind gewöhnlich durch unzweckmäßige Manipulationen bedingt und bei sorgfältigem Arbeiten zu vermeiden.

Kritik der Methodik.

Die beiden Büretten sind, wie beschrieben, so miteinander verbunden, daß die Kapillaren 3 und 4 Glas an Glas stoßen und durch einen Gummischlauch zusammengehalten werden; es würde besser sein, wenn die Kapillaren mit einem Schliff ineinandergriffen. Wegen der Bruchgefahr an dieser Stelle müßte dann die ganze Apparatur auf einem Rahmen fest montiert sein. Da sie jedoch zur Reinigung häufig auseinander genommen werden muß, würde die feste Verbindung beider Büretten das Arbeiten so erschweren, daß wir auf den Schliff zwischen 3 und 4 verzichtet haben; auch so wird an dieser Stelle kein merklicher Fehler entstehen.

---

[1]) Zitiert nach *H. Henning*, Der Geruch, 2. Aufl., S. 411.

Geruchsschwellen lassen sich wohl kaum genauer als auf 10 bis 20 Proz. des Wertes feststellen. Die Exaktheit der volumetrischen Abmessung liegt auch bei einem mäßigen Grade von Sorgfalt weit unter dieser Grenze. Die Genauigkeit des ganzen Verfahrens ist also fast ausschließlich durch die Sicherheit der eigentlichen Schwelleneinstellung bestimmt, und auf diesen Teil der Messung ist mithin das Hauptgewicht zu legen. Speziell ist zu achten auf Störungen durch fremde Gerüche, durch Schwankungen der Aufmerksamkeit, durch Ermüdung.

Daß ein Teil des Riechstoffs an den Gefäßwänden haften bleibt, ist nicht zu umgehen und eine Schwierigkeit, mit der alle quantitativen Versuche über den Geruchssinn zu kämpfen haben. Die Fehler durch diese unvermeidliche Adsorption lassen sich jedoch so weit reduzieren, daß sie neben der Unsicherheit der Schwelleneinstellung unmerklich bleiben, z. B. dadurch, daß man die adsorbierten Gasmengen während einer Versuchsserie annähernd konstant hält. Das glauben wir mit der Anordnung unserer Versuche erreicht zu haben: Die im Vorratsrohr adsorbierte Dampfmenge bleibt nach eingetretener Sättigung konstant; an den Wänden der Überleitungskapillaren zum Meßrohr ändert sie sich nicht mehr, nachdem einmal die erste Dampfprobe zum Meßrohr hinübergeleitet ist; denn danach kommt dieser Teil der Glaswände nur noch mit dem gesättigten Dampfe oder mit Quecksilber in Kontakt, vorausgesetzt, daß man den Fehler vermeidet, durch diese Rohrleitung Luft oder verdünntes Riechgas zu treiben. Die abgemessenen Proben des gesättigten Dampfes bleiben also — abgesehen von der ersten nach voraufgegangener Reinigung — beim Überführen zum Meßrohr unverändert. Einen merklichen Einfluß hat demnach nur die Adsorption im Meßrohr selbst. Die in der Kondensationsschicht der Rohrwände adsorbierten Dampfmengen sind mit dem jeweiligen Partialdruck des Dampfes veränderlich; infolgedessen hängen Stärke und Richtung der Änderung, die eine im Meßrohr eingestellte Dampfkonzentration erleidet, von ihrem Konzentrations*unterschied* gegenüber der *vorangegangenen* Dampfprobe ab. Je kleiner mit anderen Worten der Konzentrations*unterschied* der im Meßrohr aufeinander folgenden Riechproben ist, um so kleiner ist auch die Konzentrations*änderung*, die sie durch Adsorption erleiden. Gibt man also beim auf- und absteigenden Verfahren oder auch beim Einkreisen den in Schwellennähe liegenden Konzentrationen hinreichend kleine Unterschiede, so wird der Adsorptionsfehler einflußlos. Man dürfte bald eine Grenze erreichen, an welcher der Fehler infolge Ermüdung überwiegt.

Am einfachsten ist die Methode (Bestimmung wie Berechnung) bei solchen Substanzen, die einen bei Zimmertemperatur noch gut meßbaren Sättigungsdruck haben, und die außerdem nicht allzu stark

riechen. Sättigungsdrucke, die bei Zimmertemperatur unmeßbar klein sind, lassen sich unter Umständen nach der *Nernst*schen[1]) oder *Planck*schen[2]) Formel berechnen. Bei sehr stark riechenden Stoffen wird die Verdünnung in dem *einen* Meßrohr ungenau. Man hilft sich durch Zwischenschaltung von einem oder mehreren anderen Meßrohren mit Niveaugefäßen zwischen *V* und *M* und entsprechend fraktionierten Verdünnungen. Der oben beschriebene Untersuchungsgang wiederholt sich mit jedem Paare benachbarter Rohre; jedes vorangehende Rohr enthält dann die Stammlösung für das folgende. Zur Vermeidung des Adsorptionsfehlers muß jedes der Rohre mit der entsprechenden Verdünnung zunächst vorgespült werden.

Zusammenfassung.

Es wird die Einrichtung und der Gebrauch eines *Riechmessers für absolute Werte* beschrieben und kritisch betrachtet. Die Methodik weicht insofern von den gebräuchlichen ab, als *nicht* von *wägbaren* Riechstoffmengen, sondern von einem durch den Dampfdruck definierten gesättigten Riechgas-Luftgemisch ausgegangen wird; infolgedessen ist die bis zum Erreichen der Schwelle noch erforderliche Verdünnung verhältnismäßig gering. Der Fehler durch Adsorption läßt sich bei der Methode unmerklich klein halten.

---

[1]) *W. Nernst*, Grundlagen des neuen Wärmesatzes 1918.

[2]) *R. Planck*, Zeitschr. f. techn. Physik 1922, S. 1.

Insulin und die Zuckerverteilung zwischen flüssigen und nicht flüssigen Systemen.

(Kurze Mitteilung.)

Von

H. Häusler und O. Loewi.

(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Graz.)

(Eingegangen am 2. Februar 1925.)

Gegenüber der wohl verbreitetsten Anschauung, wonach der Diabetes auf Störungen von Fermenttätigkeit beruhen soll, haben zum erstenmal *Höber* (1), später *Palmer* (2) und *Arnoldi* (3) die Möglichkeit erörtert, daß beim Diabetes die normale Permeabilität der Zellen für Glucose gestört sei. Die erste experimentelle Stütze für die Berechtigung dieser Anschauung erbrachten vor nunmehr 2 Jahren *Geiger* und *Loewi* (4) durch den Nachweis, daß die künstlich durchströmte Froschleber wohl aus dem Serum von Normalen, nicht aber aus dem von Diabetikern Glucose aufnimmt. Sie zogen daraus den Schluß, daß im diabetischen Serum etwas enthalten ist, das die Leber für Glucose impermeabel macht. Wenn anders der Permeabilitätsstörung eine wesentliche Bedeutung für den Diabetes zukommt, muß verlangt werden, daß die Substanz, welche die diabetischen Störungen behebt, nämlich das Insulin, die Permeabilität der Zellen für Glucose begünstigt. Wir haben darum an verschiedenen Objekten den Einfluß des Insulins in dieser Richtung untersucht, und in der folgenden Mitteilung soll einstweilen kurz über unsere bisherigen Ergebnisse berichtet werden.

1. Versuche mit Gefäßbrei.

Aus hier nicht näher zu erörternden Gründen wählten wir als erstes Objekt „Gefäßbrei“, worunter wir den Brei verstehen, der durch Zerkleinerung von frisch bezogenen und wiederholt in kalter Kochsalzlösung gewaschenen Rindsarterien und -venen mittels der Fleischmaschine gewonnen wurde. Von diesem Brei wurden zwei gleichschwere Proben abgewogen und mit gleichen Mengen glucosehaltiger

Kochsalzlösung bzw. Serum bzw. Plasma versetzt; der einen Probe wurde Insulin[1]) zugesetzt. Nunmehr wurden beide Proben 10 Minuten auf der Schüttelmaschine geschüttelt, vom Brei abfiltriert und im Filtrat nach Enteiweißung die Glucose bestimmt. Es wurden im ganzen 14 Versuche angestellt; in sämtlichen wurde im Filtrat der insulinhaltigen Probe um 2,2 bis 9,3 Proz., im Durchschnitt 6,2 Proz. weniger Glucose gefunden als in der insulinfreien Probe. Da das von uns fast ausschließlich benutzte hiesige Insulinchlorhydrat sauer ist, wurde durch Zusatz von Salzsäure der gleichen p_H bzw. durch Auspufferung mittels Phosphatgemisches untersucht, ob die Glucoseabnahme etwa auf den Säuregehalt unseres Insulins zurückzuführen sei; es zeigte sich aber, daß einerseits in der insulinfreien, salzsäurehaltigen Probe keine Spur von Abnahme eintrat, andererseits die ausgepufferte Insulinprobe ebenso stark an Glucose abnahm wie die saure. Es ist daher die Glucoseabnahme eine spezifische Insulinwirkung. Wenn auch bei dem von uns gewählten Material schon a priori nicht anzunehmen war, daß unter dem Einfluß von Insulin die Glucose etwa zerstört worden sei, sicherten wir diese Annahme eigens durch Versuche, in denen gekochter Brei zur Verwendung kam: Auch in diesen Versuchen trat in der insulinhaltigen Probe eine Verminderung des Glucosegehalts von gleichem Ausmaß ein wie sonst[2]).

2. Versuche mit Blutkörperchen.

Wenn auch die Versuche mit gekochtem Brei es im höchsten Maße unwahrscheinlich machten, daß die Glucoseabnahme im Filtrat der insulinhaltigen Probe durch Zerstörung der Glucose zustande gekommen sei, schien es uns bei der Wichtigkeit dieser Frage doch wünschenswert, die Versuche an einem weiteren Objekt anzustellen, bei dem die Möglichkeit gegeben war, das Schicksal der unter Insulineinfluß aus der Flüssigkeit verschwundenen Glucose eindeutig festzustellen. Hierzu wählten wir Blutkörperchen vom Rinde. Die Versuchsanordnung war grundsätzlich die gleiche wie beim Gefäßbrei. Die gewaschenen Blutkörperchen wurden mit glucosehaltiger Kochsalzlösung bzw. Plasma bzw. Serum und außerdem einer zur Auspufferung

[1]) Das Insulin wurde uns in Form des Chlorhydrats in entgegenkommendster Weise von Herrn mag. *Wischo*, Direktor der steirischen pharmazeutischen Werke, zur Verfügung gestellt. Kaninchendosis: 5 mg. Außerdem verdanken wir der gütigen Vermittlung des Herrn Dr. *H. H. Dale*, daß ein außerordentlich wirksames Insulin (Kaninchendosis: 0,12 bis 0,18 mg) uns von den British drughouses zur Verfügung gestellt wurde. Die Ergebnisse waren bei Anwendung beider Präparate die gleichen.

[2]) Daß Insulingegenwart nicht etwa die Zuckerbestimmung beeinträchtigt, haben wir selbstverständlich von Anfang an festgestellt.

des zur einen Probe zugesetzten Insulins zureichenden isoosmotischen Phosphatmischung[1]) versetzt.

Sämtliche 16 Versuche, die wir anstellten, zeigten ebenso wie die Gefäßbreiversuche bei den insulinhaltigen Proben eine Glucoseabnahme in der nach dem Schütteln durch Abzentrifugieren der roten Blutkörperchen gewonnenen Flüssigkeit[2]). Anders als bei den Gefäßbreiversuchen zeigte sich aber hier ein wesentlicher quantitativer Unterschied in der Größe der Glucoseabnahme, je nachdem, ob die Blutkörperchen einerseits mit Kochsalzlösung, andererseits mit Plasma bzw. Serum aufgeschwemmt worden waren: die Abnahme in den insulinhaltigen Kochsalzproben betrug, mit durchschnittlich 1,6 Proz., nur etwa $^1/_4$ bis $^1/_5$ derjenigen der Plasma- (8,6 Proz.) bzw. Serumproben (5,2 Proz.).

Über das Schicksal des unter Insulinwirkung aus der Flüssigkeit geschwundenen Zuckers geben nun die mit NaF-Blut angestellten Versuche eindeutigen Aufschluß. War es schon vorher bekannt und konnten wir dies in eigens hierzu angestellten Versuchen nachweisen, daß im NaF-Blut Glykolyse auch nicht spurenweise stattfindet, war daher auch zu erwarten, daß die in den insulinhaltigen Proben aus dem Plasma verschwundene Glucose nicht lytisch zerstört worden war, so stellten wir doch bei der entscheidenden Wichtigkeit dieser Frage für das vorliegende Problem eigens Versuche derart an, daß wir in Kontroll- und Insulinprobe neben der Analyse des Plasmas auch eine solche des Gesamtblutes nach dem Schütteln vornahmen. Dabei ergab sich, daß, während der Glucosegehalt des insulinhaltigen Plasmas, wie mitgeteilt, niedriger war als im insulinfreien, der Glucosegehalt der Gesamtproben — Körperchen + Plasma — in beiden Proben völlig identisch war. Es war also die Konzentrationsabnahme der Glucose im insulinhaltigen Plasma nicht durch Zerstörung der Glucose zustande gekommen. Unseres Erachtens lagen nur zwei Möglichkeiten vor, die Konzentrationsabnahme der Glucose im Plasma zu erklären: entweder — was allerdings a priori sehr unwahrscheinlich war — konnten unter dem Einfluß des Insulins die Blutkörperchen geschrumpft sein und durch Abgabe von Wasser das Plasma verdünnt und so die Konzentrationsabnahme an Glucose herbeigeführt haben, oder aber es mußte unter dem Einfluß von Insulin Glucose aus dem Plasma an oder in die Blutkörperchen gegangen sein. Die erste Möglichkeit entfällt;

---

[1]) Die p_H-Bestimmung erfolgte durchweg mittels der Gaskettenmethode.

[2]) Auf Versuche von *Wiechmann* (6), der bei Wahl anderen Blutmaterials und im allgemeinen ähnlicher, aber im einzelnen von der unsrigen abweichender Methodik zu negativen Ergebnissen gelangte, wird seinerzeit in der ausführlichen Mitteilung näher eingegangen werden.

denn Blutkörperchenvolumenbestimmungen einerseits, Bestimmungen der Gefrierpunktserniedrigung und des Trockenrückstandes des Plasmas andererseits ergaben in der insulinfreien und insulinhaltigen Probe keine außerhalb der Fehlergrenzen liegende Unterschiede. **Damit ist bewiesen, daß unter dem Einfluß des Insulins Glucose aus dem Plasma an oder in die Blutkörperchen geht.** Völlig anders als die mit Plasma fielen die in ganz analoger Weise mit Serum ausgeführten Versuche aus; dies war a priori zu erwarten, nachdem anders als im NaF-Plasma im defibrinierten Blute Glykolyse stattfindet: In der Tat fanden wir, daß bei den Serumversuchen in den insulinhaltigen Proben die Glucoseabnahme nicht nur im Serum, sondern, und zwar höchst bemerkenswerterweise in gleicher Quantität, auch im Gesamtblut zu finden war. Hier war also der, wie die Plasmaversuche beweisen, an die Blutkörperchen gegangene Zucker nachträglich zerstört worden[1][2].

Berücksichtigen wir, daß in einem ad hoc angestellten Versuch, wo wir Blut vom gleichen Rinde das eine Mal defibrinierten, das andere Mal mit NaF auffingen und beide ganz gleich weiterbehandelten, in den insulinhaltigen Serum- bzw. Plasmaproben die ganz gleiche Zuckermenge schwand und wir im Plasmagesamtblut sie wiederfanden, im Serumgesamtblut dagegen nicht, so geht unseres Erachtens aus der Gegenüberstellung der Serum- und Plasmaversuche hervor, daß die spezifische Insulinwirkung in diesen Versuchen nur darin besteht, die Glucose an oder in die Blutkörperchen zu treiben[3]. Das weitere Schicksal der Glucose, d. h. ob und wie sie verwertet wird, hängt dann

---

[1]) Die Untersuchungen von *Eadie*, *Macleod* und *Noble* (Amer. Journ. of Physiol. **65**, 462, 1923), wonach Glucolyse schlechthin durch Insulin nicht gesteigert wird, sind unter ganz anderen Bedingungen angestellt und darum mit unseren Versuchen nicht ohne weiteres vergleichbar.

[2]) Der Befund, daß die an die Zellen herangebrachte Glucose zerstört wurde, steht in guter Übereinstimmung mit den Ergebnissen einer Untersuchung von *A. Loeb* (5), wonach der Umfang der Glykolyse im wesentlichen abhängig ist von der Durchlässigkeit der roten Blutkörperchen für Glucose. Wir würden auf Grund unseres Tatsachenmaterials nur sagen: Durchlässigkeit oder Adsorptionsfähigkeit.

[3]) Der gleichsinnige Ausfall der Gefäßbreiversuche, bei denen infolge vielfacher absichtlicher Mißhandlung zweifellos keine oder wenig intakte Zellen vorhanden waren, erlaubt unseres Erachtens den Schluß, daß Glucose unter Insulinwirkung nicht nur an intakte Zellen, sondern an Strukturiertes schlechthin herangebracht wird. Daß andererseits nicht alle Strukturen für die Insulinwirkung in gleichem Maße zugänglich sind, geht einmal daraus hervor, daß, wie wir sahen, Blutkörperchen in Kochsalzlösung nur minimale Glucosemengen aufnehmen, andererseits in eigens angestellten Versuchen Kohle auch nicht bei Gegenwart von Serum unter Insulin mehr Glucose adsorbiert hat als ohne Insulin.

nicht mehr vom Insulin ab, sondern von den Bedürfnissen und dem Zustand der Zellen, von den Fermenten usw.

Wir hatten die Forderung aufgestellt, daß für den Fall, daß beim Diabetes eine Permeabilitätsstörung für Glucose im Spiele ist, nachgewiesen werden müsse, daß Insulin die Permeabilität im weitesten Sinne (Durchlässigkeit, Adsorption) fördern müsse. Durch die Ergebnisse dieser Untersuchung glauben wir mindestens für die hier geprüften Objekte gezeigt zu haben, daß dem tatsächlich so ist.

Literatur.

1) *Höber*, diese Zeitschr. **60**, 253, 1914. — 2) *Palmer*, Journ. of biol. Chem. **30**, 107, 1917. — 3) *Arnoldi*, Deutsch. med. Wochenschr. **8**, 250, 1922. — 4) *Geiger* und *Loewi*, Pflügers Arch. **198**, 633, 1923. — 5) *A. Loeb*, diese Zeitschr. **49**, 413, 1913. — 6) *Wiechmann*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **91**, 462, 1924.

Neue Untersuchungen über das Verhalten der Oxalessigsäure zu tierischen Organen.

Von

Paul Mayer (Karlsbad).

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie und Biochemie in Berlin-Dahlem.)

(Eingegangen am 27. Januar 1925.)

Früher habe ich[1]) gezeigt, daß die Oxalessigsäure in Berührung mit tierischen Geweben leicht Kohlendioxyd abspaltet, und zwar mindestens so viel als dem quantitativen Übergang in Brenztraubensäure entspricht; durch diesen Befund hat die Oxalessigsäure auch ein Interesse für die Vorgänge im Tierkörper erlangt. Zuvor war bereits von *Neuberg* und Mitarbeitern[2]) festgestellt worden, daß die Oxalessigsäure genau wie die Brenztraubensäure durch das Ferment Carboxylase angegriffen wird, wobei unter Loslösung zweier Moleküle Kohlendioxyd Acetaldehyd entsteht; hinzufügen konnte ich[3]), daß beide stereoisomeren Formen der Oxalessigsäure, die Oxymaleinsäure und die Oxyfumarsäure, sich in dieser Beziehung gleich verhalten. Späterhin hat die Oxalessigsäure eine weitere Bedeutung dadurch gewonnen, daß sie nach der *Wieland-Thunberg*schen Theorie eine zwangsläufige Zwischenstufe beim Abbau der Kohlenhydrate darstellt. Der Abbau, der mit Kohlenstoffketten-Verkürzung einhergeht, ist einigermaßen klar bis zur Stufe des Acetaldehyds bzw. der Essigsäure. Die Umwandlung der letzteren ist jedoch ein ungelöstes Problem. Die Dehydrierungshypothese sucht diese Schwierigkeiten zu beheben mit der Annahme, daß Acetat durch Abgabe von Wasserstoff zu Succinat wird, die Bernsteinsäure dann über Fumarsäure, Äpfelsäure und Oxalessigsäure abgebaut wird und durch carboxylatische Spaltung Brenztraubensäure bzw. Acetaldehyd liefert; so würde das Acetat

---

[1]) *P. Mayer*, diese Zeitschr. **62**, 462, 1914.

[2]) *C. Neuberg* und *L. Tir*, ebendaselbst **32**, 330, 1911; *C. Neuberg* und *L. Karczag*, ebendaselbst **36**, 72, 1911.

[3]) *P. Mayer*, ebendaselbst **50**, 283, 1913.

wieder Anschluß an den normalen Zyklus der Zuckerspaltungsprodukte finden.

Quastel und *Whetham*[1]) haben gezeigt, daß bei Gegenwart gewisser, in besonderer Weise gezüchteter Bakterien sich ein Gleichgewicht zwischen Bernsteinsäure, Fumarsäure und Äpfelsäure ausbilden kann, und *Quastel*[2]) erörtert auch die Möglichkeit, daß Oxalessigsäure hier ein verbindendes Glied sein könne. In bezug auf das Muskelgewebe hatte *Dakin*[3]) schon früher festgestellt, daß Muskelenzyme einen großen Teil von zugefügter Fumarsäure in l-Äpfelsäure überführen.

Ob nun in den Kreis dieser durch reversible Umwandlungen miteinander zusammenhängenden Substanzen auch die Oxalessigsäure gehört, ist bisher nicht erwiesen. In kleinen Mengen haben neuerdings *Neuberg* und *Gorr*[4]) Äpfelsäure bei der Vergärung von Oxalessigsäure mittels Hefe gefunden; die Hauptprodukte bilden Acetaldehyd und das aus dessen acyloinmäßiger Kondensation entstehende Acetoin nebst seinem weiteren Reduktionsprodukt, dem β, γ-Butylenglykol.

Für das Muskelgewebe läßt sich nun zeigen, daß es tatsächlich befähigt ist, einen Übergang von Oxalessigsäure in optisch aktive und zwar l-Äpfelsäure zu bewerkstelligen.

Zu diesem Ergebnis bin ich durch die folgende Versuchsanordnung gelangt:

5 g reiner Oxalessigsäure werden in einer 1 Liter fassenden Stöpselflasche in 200 ccm kalten Wassers gelöst und mit n Natronlauge unter Eiskühlung genau neutralisiert. Zu der Lösung werden 100 g frischen Muskelbreies von Kaninchen zugefügt, die Lösung wird auf 500 ccm aufgefüllt und nach Zusatz von 5 ccm Toluol für 24 Stunden im Brutschrank bei 37⁰ belassen. Nach Ablauf dieser Zeit wird der Gesamtinhalt der Flasche in einen Rundkolben übergeführt und im Wasserbad bei schwach essigsaurer Reaktion koaguliert. Nach dem Erkalten wird filtriert, im Vakuum auf etwa 100 ccm eingeengt, die filtrierte Lösung im Kolben mit Bleizucker in Substanz und sofort mit einer zur völligen Ausfällung genügenden Menge Bleiessig sowie mit dem gleichen Volumen Alkohol versetzt. Um aus diesen Bleisalzen die zugrunde liegende freie Säure zu gewinnen, wird der Niederschlag am nächsten Tage abgesaugt, mit 50proz. Alkohol gewaschen, in der Reibschale mit Wasser angerieben und mit H_2S zerlegt. Das Filtrat wird im Vakuum bis zum Sirup eingeengt, direkt im Kolben mit Aceton, welches etwa vorhandene Äpfelsäure aufnimmt, versetzt und 10 Minuten am Rück-

---

[1]) *J. H. Quastel* and *M. D. Whetham*, Biochem. Journ. 18, 519, 1924.
[2]) *J. H. Quastel*, ebendaselbst 18, 377, 1924.
[3]) *H. D. Dakin*, Journ. of biol. Chem. 52, 183, 1922.
[4]) *C. Neuberg* und *G. Gorr*, diese Zeitschr. 154, 495, 1924.

flußkühler ausgekocht. Nach dem Erkalten wird in eine kleine Schale filtriert, die erhaltene Lösung auf dem Wasserbad bis zum Sirup konzentriert und in 30 ccm Wasser aufgenommen. Zum Nachweis der Äpfelsäure bediente ich mich des polarimetrischen Verfahrens von *Yoder*[1]), der die von *Walden*[2]) gemachte Beobachtung verwertet, daß Uranylsalze die Drehung der Äpfelsäure sehr beträchtlich steigern[3]).

Die Lösung drehte direkt im 2-dcm-Rohr eine minimale Spur nach links (unter 0,1 Proz. auf Traubenzucker berechnet). 20 ccm werden mit festem Uranylacetat im Überschuß versetzt und unter häufigem Schütteln einige Minuten stehengelassen. Das Filtrat zeigt eine Linksdrehung von 2,2 Proz. (auf Glucose berechnet). Diese Linksdrehung ist für das Vorhandensein von Äpfelsäure absolut beweisend, um so mehr, als in den Acetonextrakt Zucker oder andere, eventuell mit Uranylsalz Komplexe bildende Verbindungen nicht übergehen.

Vier weitere, in derselben Weise ausgeführte Versuche hatten das gleiche Ergebnis. Die erhaltenen Lösungen waren vor Behandlung mit Uranylacetat optisch inaktiv oder zeigten minimalste Linksdrehung, während die nach Uranylacetatzusatz beobachteten Drehungen sich zwischen 1,8 und 2,6 Proz. bewegten. Im Durchschnitt aus sämtlichen Versuchen waren 0,18 g Äpfelsäure entstanden, d. h. 3,6 Proz. der angewendeten Oxalessigsäure waren zu Äpfelsäure geworden.

Ausdrücklich sei betont, daß zwei mit Muskelbrei allein, ohne Oxalessigsäurezusatz, in der gleichen Weise ausgeführte Kontrollversuche und ein nur mit Oxalessigsäure ohne Muskelbrei vorgenommener Versuch ein negatives Ergebnis hatten.

---

[1]) *P. A. Yoder*, Zeitschr. f. Nahrungs- u. Genußm. **22**, 329, 1911.

[2]) *P. Walden*, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **30**, 2889, 1897; **32**, 2849, 1899.

[3]) Für freie l-Äpfelsäure (3proz. Lösung) beträgt die spezifische Drehung $[\alpha]_{D20} = -2,25^0$; eine mit Uranylacetat versetzte l-Äpfelsäure (1proz. Lösung) hat eine spezifische Drehung von $[\alpha]_{D20} = -515^0$. Den Äpfelsäurewert findet man aus dem Glucosewert mittels Division durch 9,8; vgl. *K. Ohta*, diese Zeitschr. **44**, 485, 1912.

Adsorption von Giften an einer neuen Pflanzenkohle „Supra-Norit“.

Von

Ernst Laqueur und Anton Sluyters.

(Aus dem pharmako-therapeutischen Laboratorium der Universität Amsterdam.)

(Eingegangen am 2. Februar 1925.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Nachdem die *Kohle* früher schon öfter als ein gutes Mittel bei Vergiftungen genannt ist, verdanken wir *Lichtwitz* und ganz besonders *Wiechowski* die Wiedereinführung in die praktische Therapie. Aber noch immer ist trotz vieler günstiger Erfahrungen ihr Gebrauch nicht allgemein genug. Eine wichtige Rolle spielt die *Größe* des *Adsorptionsvermögens* der verschiedenen Kohlenarten: je höher dies ist, um so besser wird sich im allgemeinen die Kohle bei der praktischen Anwendung erweisen. Am Schluß der Mitteilung kommen wir nochmals kurz darauf zurück, daß es in manchen Fällen nicht helfen kann, von der schlechteren Kohle sehr viel mehr zu nehmen, sondern, daß man auch mit sehr großen Mengen hiervon nicht das gewünschte Ziel erreichen kann. Dieses ist: durch das Adsorbens so viel von einem Gifte festzulegen, daß der Rest unter der toxischen Dosis bleibt.

Mit Recht betonte darum auch *Wiechowski*[1]), „daß die Bemühungen der Technik darauf auszugehen haben, höchst adsorbierende Adsorbentia herzustellen“.

Aus diesem praktisch-therapeutischen Gesichtspunkte hatte es Interesse, eine *Pflanzenkohle,* genannt „Supra-Norit“, zu untersuchen, von der uns angegeben wurde, daß sie stärker adsorbiert als die bisher im Handel vorkommenden. Diese „Supra-Norit“-Kohle soll nach Angabe der darstellenden Fabrik auf andere Weise bereitet werden, wie die von ihr unter dem Namen „Medicinaal Norit“ in den Handel gebrachte Kohle und erheblich stärker als diese adsorbieren.

In der vorliegenden Mitteilung werden nur Versuche in vitro besprochen. Nach Erfahrungen von verschiedenen Autoren — wir

---

[1]) Therap. d. Gegenwart **24**, 129, 1922.

erinnern an solche von *Horst*[1]) mit Toxinen — besteht kein Parallelismus zwischen Adsorption in vitro und der in vivo, korrekter müßte man sagen: zwischen dem Adsorptionsvermögen in vitro und dem therapeutischen Effekt. Denn dieser hängt natürlich nicht nur von der Adsorption in vivo ab.

In allen Fällen übrigens, wo auf Widersprüche zwischen Verhalten der Kohle in vitro und dem in vivo hingewiesen wurde, sind die Ergebnisse in vivo niemals mit *der* Sicherheit festgestellt, als es durch in-vitro-Versuche möglich ist. Es sind eben *quantitative* Resultate mit *Tier*experimenten wirklich nur durch eine so große Anzahl von Einzelversuchen zu erreichen, daß man nach unserer Ansicht in praxi wirklich selten zu solch quantitativen Ergebnissen gelangt ist. Wir glauben darum, vorläufig im allgemeinen annehmen zu dürfen, daß diejenigen Kohlearten, die in vitro chemisch definierte Stoffe sehr gut adsorbieren, auch in vivo diesen gleichen Stoffen gegenüber Gutes leisten werden. Später hoffen wir übrigens noch von Erfahrungen mit Supra-Norit in vivo berichten zu können.

Es kam uns nun auch weniger darauf an, den Vergleich von der genannten Pflanzenkohle auf sehr viele andere Kohlesorten auszudehnen, da Vergleiche von solchen untereinander von verschiedenen Seiten bereits geschehen sind. Wir verglichen darum die Wirksamkeit von Supra-Norit hauptsächlich mit einer *Tier*kohle, *Carbo animalis* (*Merck*). Diese steht unter den für therapeutische Zwecke benutzten Kohlearten mit an erster Stelle [Mitteilungen des Reichsinstituts für pharmaco-therapeutische Untersuchungen[2])]; sie gilt ferner als eine der reinsten [*Michaelis* und *Rona*[3])] und ist vor allem, jedenfalls hier in Holland, wahrscheinlich auch in Deutschland, mit am meisten verbreitet. Eine von *Wiechowski*[4]) als besonders gute bezeichnete Kohle „*Aristocarbon*" war hier weder in Apotheken noch beim Großhandel im Verkehr.

Wir bestimmten nun die Adsorptionskraft nicht nur gegenüber gefärbten Lösungen (mit Methylenblau oder Jod), sondern hauptsächlich gegenüber in praxi vorkommenden *Giften:* wie Oxalsäure, Kleesalz, reinem Sublimat, ferner Sublimatpastillen ($NaCl + HgCl_2$), Alkaloiden (Strychnin und Morphin). Denn wenn im allgemeinen auch eine Übereinstimmung zwischen den Adsorptionsvermögen gegenüber den verschiedenen Stoffen nach der „Regel von *Freundlich*", wie es *Kolthoff*[5])

---

[1]) Diese Zeitschr. **113**, 99, 1921.
[2]) Mededeelingen v. h. Ryks Inst. voor Pharmacother. onderzoek Nr. 2, 1921; Nr. 3, 1922.
[3]) Diese Zeitschr. **97**, 57, 1919.
[4]) l. c.
[5]) Pharmaceut. Weekblad. **58**, 630, 1921.

bezeichnet hat, besteht, so ist die Übereinstimmung wohl keine vollständige, und mit Recht haben verschiedene Autoren darauf hingewiesen, man dürfe sich nicht begnügen mit Feststellung der Adsorption von Methylenblau- oder Jodlösungen, um den Wert einer Kohleart zu beurteilen. Wir wollen hier nicht näher auf die verschiedenen Untersuchungen eingehen, welche Methode und welche Substanzen nun die besten sind, um „das" Adsorptionsvermögen festzustellen, möchten nur nochmals auf die eben zitierte, leider nur holländisch erschienene, Arbeit von *Kolthoff* [1]) hinweisen.

Bei Beurteilung des Wertes von Kohlen ist jedenfalls darauf zu achten, daß die Menge Kohle gegenüber der *gleichen Menge* Gift variiert und endlich auch gegenüber verschiedenen Konzentrationen derselben Menge Gift untersucht wird. Denn auch demjenigen, der nicht auf diesem Gebiete zu Hause ist, ist bekannt, daß, wenn durch die Kohlenmenge A z. B. aus 100 ccm einer 1 proz. Lösung 10 Proz. = 100 mg adsorbiert werden, durch die Menge 5 A keineswegs 50 Proz. = 500 mg adsorbiert werden, daß aber auch weiterhin aus 50 ccm von einer 2 proz. Lösung durch dieselbe Kohlenmenge A nicht wiederum 100 mg adsorbiert werden müssen, sondern ein anderer Wert. Diese Tatsachen werden am besten durch die sogenannten Adsorptionskurven ausgedrückt, auf die wir hier übrigens nicht näher eingehen wollen. Praktisch kommt es aber gerade darauf an, daß sich Kohlearten *unter* möglichst *allen Verhältnissen* als *vollwertig* erweisen.

Wir haben immer vier, öfter fünf verschiedene Mengen Kohle gegenüber drei, öfter nur zwei Giftkonzentrationen untersucht.

Vergleichende Ergebnisse sind am besten zu übersehen durch Angabe, wieviel Prozent Gelöstes aus einer bestimmten Lösung durch die gebrauchten Kohlen adsorbiert sind.

Zuvor noch einiges über die *Methodik*.

Methodik.

Wenn nichts anderes angegeben, wurden stets 20 ccm der bestimmten Giftkonzentration in einem Zentrifugierröhrchen mit wechselnden Kohlenmengen gut geschüttelt und dann nach einer bestimmten Zeit, im allgemeinen nach 10 Minuten, 10 Minuten lang mit 3000 Touren pro Minute zentrifugiert. Danach wurde der obere Teil der Flüssigkeit abgesaugt, durch ein kleines Filter filtriert und in zwei Portionen (meist mit Mikrobüretten) titriert. Es wurde jeder Versuch mindestens in zwei Proben angesetzt (also vier Titrationen). Bei den Versuchen mit Alkaloiden benutzten wir auch größere Mengen, nämlich 150 bzw. 500 bzw. 750 ccm, die wir in einer 6 mal 1 Liter fassenden Zentrifuge (auch mit 3000 Touren) zentrifugierten, und wovon 25 ccm bzw. 100 ccm des Filtrats zu den einzelnen Analysen verwendet wurden.

---

[1]) l. c.

Bei unseren ersten Versuchen haben wir nicht filtriert, sondern eine bestimmte Menge der obenstehenden Flüssigkeit direkt titriert. Bei Adsorptionsversuchen mit wenig konzentrierten Lösungen lag aber hier eine Fehlerquelle vor. Kleine Kohleteilchen schwimmen nämlich immer noch an der Oberfläche der Flüssigkeit und bilden dort ein Häutchen. Nimmt man dieses mit in die zu titrierende Flüssigkeit, so titriert man womöglich die an der Kohle adsorbierte Menge mit. Wir sind zuerst so verfahren. um einen etwaigen anderen Fehler zu vermeiden: Adsorption an Filtrierpapier; wir glauben jedoch, daß dieser Fehler geringer ist als der erstgenannte und gegenüber der so viel stärkeren Adsorption durch die Kohle nicht in Betracht kommt. Übrigens ist der Fehler für Versuche mit verschiedenen Kohlen derselbe und spielt so für die relativen Werte keine Rolle.

Zur Prüfung der Genauigkeit der Methode (meist titrimetrische) und der Fehlergrenzen können folgende Beispiele dienen: ein Versuch mit 0,27 n Kal. bioxal. und Carbo anim. (*Merck*), wobei das Gemisch nach dem Schütteln bis zum Zentrifugieren 10 Minuten stehen blieb, und ein Versuch mit 0,01 n Oxalsäure und *Supra-Norit* mit einer Wartezeit von 30 Minuten.

Kohle mg	Titriert in 4 ccm Filtrat	Mittel pro Röhre	Mittel pro Bestimmung
Carbo anim. (*Merck*) (0,27 n Kal. bioxal.)			
100	8,56—8,54 8,50—8,53	8,55 8,515	8,53
200	8,07—8,09 8,12—8,11	8,08 8,115	8,10
1000	5,10—5,11 5,07—5,04	5,105 5,055	5,08
2000	3,30—3,32 3,30—3,26	3,31 3,28	3,29
blanko	9,00—8,96 9,02—9,05	8,98 9,035	9,01
Supra-Norit (0,01 n Oxalsäure)			
50	3,58—3,60 3,65—3,66	3,59 3,655	3,62
100	2,98—2,99 2,99—3,00	2,985 2,995	2,99
200	2,12—2,11 2,12—2,15	2,115 2,135	2,12
1000	0,24—0,25 0,20—0,22	0,245 0,21	0,22

Die hier gewählten Beispiele sind willkürlich unseren Versuchsprotokollen entnommen. Die Bestimmungsfehler sind also klein. Eine Ausnahme bilden Versuche mit sehr verdünnten Konzentrationen (s. letzte Zeile der vorstehenden Tabelle), mit sehr kleinen und sehr großen Mengen Kohle, da im ersten Falle praktisch nichts, und im zweiten Falle praktisch alles adsorbiert wird und ein Tropfen beim Titrieren schon große Differenzen gibt. Von großer Wichtigkeit für unsern Vergleich sind die eben erwähnten Bestimmungen nicht. Erwähnt sei auch, daß bei den Strychninbestimmungen der methodische Fehler etwas größer als bei den andern Versuchen

ist, weil der bei der Titration entstehende Niederschlag den Umschlag etwas stört. — Dasselbe gilt für die Bestimmung der Adsorption der Alkaloide durch Wägung des Trockenrestes im Filtrat. (Größter Fehler 4,3 Proz.) s. w. u.

Bedeutsamer sind Unterschiede, die zwischen Bestimmungen vorkommen, die mit Kohle aus derselben Büchse zu verschiedenen, durch Wochen getrennten, Zeiten gemacht sind. Wir sind solchen Unterschieden besonders bei Bestimmungen mit n/10 Oxalsäure nachgegangen.

Für die prozentische Adsorption von 20 ccm n/10 Oxalsäure an 1 g Supra-Norit, sofort nach dem Umschütteln zentrifugiert, ergibt sich nach den verschiedenen Doppelbestimmungen: 66 bzw. 64 bzw. 65,5 bzw. 63 und 71 Proz. Das Mittel beträgt 65,9 Proz. und die Differenzen mit den einzelnen Bestimmungen also 0,1, 3, 0,6, 4,4 und 8,5 Proz. Diese Fehler sind zwar viel größer als die Abweichungen zwischen zwei gleichzeitigen Bestimmungen, jedoch immer noch für unsere Fragestellung von keinem besonderen Wert.

Woher diese Fehler kommen? Vielleicht, daß ein mehr oder weniger starkes Schütteln davon die Ursache ist, oder auch die Temperatur des Zimmers, wir wissen es nicht. Mit derselben Kohle, mit welcher wir als höchsten Adsorptionswert 71 Proz. gefunden haben, haben wir wieder eine Bestimmung 2 Monate später gemacht und den Wert 69,25 Proz. erhalten, wiederum eine hohe Zahl. Es ist nicht ausgeschlossen, daß die Adsorptionsfähigkeit der Kohle beim Aufbewahren zugenommen hat; auch bei Adsorption des Kal. bioxal. hatten wir einen ähnlichen Eindruck. Möglich ist auch, daß beim Stehen das feinste Pulver der Kohle nach unten sinkt, und so der Anschein entsteht, daß die Adsorptionsfähigkeit zugenommen hat; endlich spielt vielleicht Änderung des Wassergehaltes eine Rolle.

In der Literatur finden sich wiederholt Angaben über die Bedeutung der Dauer des Schüttelns und der Länge des Zwischenraums zwischen Schütteln und Zentrifugieren. Kürzlich haben *Rakusin* und *Nesmejanow*[1]) einen Einfluß ganz abgelehnt. Sie fanden keine Differenzen in der Adsorption, ob sie 20 Minuten schüttelten oder ob sie — wie bei ihnen gebräuchlich war — die ganze Mischung 24 Stunden stehenließen (Aufgußmethode). Im allgemeinen haben wir nach 1 Minute bzw. nach gleichmäßigem zehnmaligen Schütteln 10 Minuten vor dem Zentrifugieren stehengelassen, in einigen Fällen aber sofort zentrifugiert oder auch 30 Minuten und selbst 24 Stunden gewartet. Es werden als völlig vergleichbar von uns nur Versuche angegeben, bei denen diese Bedingungen die gleichen waren. Wir tun dies, obwohl im allgemeinen die Unterschiede gering sind, die durch die verschieden langen, der Kohle zur Adsorption gelassenen, Zeiten entstehen.

Hierfür ein Beispiel: Je 20 ccm 0,5 Strychnin nitr. wurden mit 50 mg und 100 mg Supra-Norit in Zentrifugierröhrchen geschüttelt und

[1]) Münch. med. Wochenschr. 70, 1409, 1923.

nach Verlauf von verschiedenen Zeiten zentrifugiert mit dem folgenden Resultat:

Zentrifugiert	50 mg Supra-Norit im Mittel Proz.	100 mg Supra-Norit im Mittel Proz.
Sofort	31,7	53,1
Nach 10 Minuten . . .	29,1	51,8
„ 30 „ . . .	34,9	53,6
„ 24 Stunden . . .	27,2	50,8

Und was den Einfluß der Dauer des Schüttelns betrifft, so haben wir diese, wie eben erwähnt, nur in den engen Grenzen von zehnmaligem Hin- und Herbewegen, was etwa $^1/_{10}$ bis $^1/_6$ Minute in Anspruch nahm, und 1 Minute langem Schütteln variiert, dabei aber keine sicheren Unterschiede gesehen.

Z. B. sechs Röhren, jede mit 50,0 mg Supra-Norit und 20 ccm 0,5proz. Strychnin nitr. Drei Röhren, jede zehnmal geschüttelt (6 Sekunden), nach 30 Minuten zentrifugiert, geben mit n/100 KOH in je 4 ccm 3,80, bzw. 3,80, bzw. 3,805 ccm, das ist eine Adsorption von 34,9 bzw. 34,8 Proz., im Mittel 34,87 Proz.

Drei Röhren, jede 1 Minute lang geschüttelt, nach 30 Minuten zentrifugiert, in je 4 ccm 3,85, bzw. 3,90, bzw. 4,035 ccm, das ist eine Adsorption von 34,05, bzw. 33,19, bzw. 30,89 Proz., im Mittel 32,70 Proz.

Versuche [1]).

Benutzt wurde, wenn nichts weiter angegeben, als *Merck*sche Kohle die „Carbo medizinalis Merck“ (Carbo animalis), fast immer aus Originalpackungen, und als „Supra-Norit“ ein Vorrat von ± 2 kg, den uns die darstellende Fabrik, N. V. Algemeene Norit My., überlassen hat.

Wegen der Analysen der verglichenen Kohlen s. w. u.

Im allgemeinen untersuchten wir die Adsorption der Gifte in Lösungen von solchen Konzentrationen, wie sie sich ungefähr in praxi im Magen befinden werden.

Wegen der Technik der folgenden Versuche s. oben Methodik.

In den Tabellen bedeutet: sofort bzw. 10 bzw. 30 Minuten bzw. Nacht, daß die Proben nach 1 Minute langem Schütteln gar nicht, bzw. 10 bzw. 30 Minuten bzw. eine Nacht gestanden haben, bevor sie zentrifugiert wurden. Die Adsorption ist in Prozenten angegeben, jede Zahl ist das Mittel von wenigstens zwei Versuchen und vier Titrationen. Die Zahlen von den beiden Kohlesorten, die ohne weiteres vergleichbar sind, sind an erste Stelle gesetzt und fett gedruckt.

[1]) Bei verschiedenen Analysen hatten wir uns der wertvollen Hilfe von Frl. Dr. *Dingemanse* zu erfreuen.

Die Adsorption der Oxalsäure.

Die Bestimmungen wurden durch Titration der Filtrate mit n/100 bzw. n/10 Lauge mit Phenolphthalein als Indikator gemacht.

0,01 norm.

Kohle mg	Carbo. anim. [*Merck*] *)		Supra-Norit	
	30 Minuten	Nacht	30 Minuten	Sofort
50	—	—	18	—
100	27,3	40,6	82,5	14
200	46,1	64,2	52	28,5
1000	91,7	96,4	96	81
2000	94,5	96,5	98	70

*) Carbo. anim. (*Merck*) in Verpackung der Koninkl. Pharmaceut. Handelsvereen. Amsterdam.

0,1 norm.

Kohle mg	Carbo anim. (*Merck*) *)		Supra-Norit		
	30 Minuten	Nacht	30 Minuten	Nacht	Sofort
100	10,7	11,6	14,9	18,1	13
200	17,1	19,6	26,8	28,5	24
1000	59,1	58,7	69,8	72,4	65,3
2000	78,6	75,1	86,6	82,1	82

1,0 norm.

Kohle mg	Carbo anim. (*Merck*) *)		Supra-Norit	
	30 Minuten	Nacht	30 Minuten	Sofort
100	1,9**) 4,1***)	3,3	24,5	4
200	3,6 5,5	5,3	25,1	5
1000	16,8 19,9	24,5	40,4	23,5
2000	33,1 39,7	34,2	54,2	49,1

*) Verpackung der Koninkl. Pharmaceut. Handelsver. — **) Sechs Monate vor den Versuchen mit Supra-Norit angestellt. — ***) Carbo anim. (*Merck*) in Originalverpackung.

Aus den Versuchen ergibt sich, daß *Supra-Norit* Oxalsäure in allen Konzentrationen, schwankend von 1- bis zur 100fachen, stärker als die Carbo animalis (*Merck*) Kohle absorbiert. Inwieweit hier beim Verschwinden der Oxalsäure neben der Adsorption auch, nach den Erfahrungen von *Warburg*[1]), eine Oxydation der Oxalsäure beteiligt ist, wissen wir nicht. Für die Praxis spielt das wohl kaum eine Rolle.

Zwischen Carbo animalis (*Merck*) aus der Originalverpackung und einer solchen aus dem Vorrat von einer aus der größten Engroshandlungen Amsterdams bezogenen ist ein geringer Unterschied zugunsten der Kohle der Originalverpackung. Bei den folgenden Versuchen mit Kleesalz zeigte sich gerade das entgegengesetzte.

[1]) Pflügers Arch. **155**, 547, 1914.

Adsorption von Kleesalz.

Die Bestimmungen wurden wiederum durch Titration mit Lauge gleich stark wie die Konzentration der Lösungen von Kalium bioxalatum mit Phenolphthalein als Indikator ausgeführt.

0,01 norm.

Kohle mg	Carbo anim. [*Merck*]*) Nacht	Supra-Norit
100	31,0	—
200	56,5	—
1000	94,5	—
2000	95,6	—

*) Verpackung der Koninkl. Pharmac. Handelsver.

0,1 norm.

Kohle	Carbo anim. (*Merck*)			Supra-Norit	
mg	10 Minuten	Nacht	10 Minuten	10 Minuten	Sofort
100	**11,4***)	10,1*)	**10,3****)	**15,6**	11,5
200	**21,5**	18,0	**20,1**	**27,6**	22
1000	**61,0**	58,0	**59,5**	**62,4**	57
2000	**74,5**	90,1	**78,4**	**75,2**	68

0,27 norm.

Kohle	Carbo anim. (*Merck*)		Supra-Norit	
mg	10 Minuten	10 Minuten	10 Minuten (a)	10 Minuten (b***))
50	—	—	—	**0,8**
100	**5,5***)	**5,4****)	**1,0**	**8,9**
200	**11,7**	**10,1**	**6,6**	**10,2**
1000	**46,2**	**43,6**	**38,0**	**46,2**
2000	**64,8**	**63,5**	**55,4**	**65,2**

*) Verpackung der Koninkl. Pharmac. Handelsver. — **) Originalverpackung. — ***) Reihe b 2 Monate später als a.

Der Unterschied in der Adsorption zwischen den beiden Kohlensorten ist in diesem Falle gering. Die Carbo animalis war in einem Falle mit 0,27 n Lösung stärker. Da dies das einzige Mal war unter allen Versuchen (s. auch später), wurde der Versuch mit Supra-Norit 2 Monate später wiederholt und hierbei eine stärkere Adsorption als beim ersten Versuch gefunden, die annähernd gleich der der Carbo animalis war. Die Gründe für die Differenz können wir nicht angeben (s. auch unter Methodik).

Versuche mit Sublimat.

Außer reinen $HgCl_2$-Lösungen wurden auch, mit Rücksicht auf die in praxi vorkommenden Vergiftungen, Lösungen der sogenannten Sublimatpastillen, wie sie hier in Holland üblich sind, untersucht. Diese „Pastillae Chloreti hydrargyrici“ enthalten 1 g Sublimat und

400 mg NaCl pro Pastille neben einem blauen Anilinfarbstoff. [Die in Deutschland üblichen Pastillen enthalten gleiche Mengen Sublimat wie NaCl (beide 1 g) und werden durch Eosin rot gefärbt.]

Das Sublimat wurde durch Titrieren mit NaCN bestimmt nach *Rupp*[1]) mit Phenolphthalein als Indikator.

5,000 g $HgCl_2$ in 1000 ccm Aq dest. = 0,5 Proz. Lösung. — 10 ccm 1 prom. NaCN = 6,8 ccm n/100 $AgNO_3$. Je 4 ccm 0,5 Proz. $HgCl_2$-Lösung verbrauchen 10,42 bzw. 10,36; Mittel 10,39 1 prom. NaCN. Also gef.: 19,3 mg; ber.: 20,0 mg.

Sublimat.

Kohle mg	Carbo anim. (*Merck*) 10 Minuten	Supra-Norit 10 Minuten
	0,1 Proz.	
100	63,7	84,2
200	81,6	94,8
1000	97,5	98,1
2000	98,1	98,3
	0,5 Proz.	
100	40,6	54,3
200	60,7	81,6
1000	96,9	99,1
2000	98,9	99,5
1 Pastille in 1 Liter	= etwa 0,1 Proz. $HgCl_2$ + 0,04 Proz. NaCl	
50	37,6	55,8
100	63,2	79,5
200	81,2	93,9
1000	95,8	98,2
5 Pastillen in 1 Liter	= etwa 0,5 Proz. $HgCl_2$ + 0,2 Proz. NaCl	
50	22,8	29,1
100	38,0	54,3
200	59,7	76,2
1000	96,2	98,5

In allen Fällen ist Supra-Norit besser adsorbierend; der Unterschied ist hier bei bestimmten Verhältnissen erheblich. Ist relativ viel Kohle vorhanden, so findet bei beiden Arten praktisch vollständige Adsorption statt. Wie zu erwarten[2]), ist die Adsorption aus Lösungen der Sublimatpastillen überall geringer als bei den reinen $HgCl_2$-Lösungen, aber doch noch eine ziemlich starke, und bei Supra-Norit immer die größere.

Versuche mit Strychnin nitric.

Das Strychninsalz wurde durch Titrieren mit n/100 Lauge mit Phenolphthalein als Indikator bestimmt. Eine hydrolytische Spaltung bei der Adsorption in dem Sinne, daß mehr Base als Nitrat absorbiert

[1]) Chem.-Zeitschr. **32**, 1078, 1908.
[2]) *Kolthoff*, l. c.

wird, hat nicht statt: p_H der Lösung elektrometrisch bestimmt, bleibt vor und nach der Adsorption das gleiche.

Beispiel: 0,5000 g Strychnin nitric. in 100,0 Aqua dest. 10,0 ccm der Lösung verbrauchen 12,18 bzw. 12,09 ccm n/100 KOH, also gefunden: 48,38 bzw. 48,02 mg; berechnet: 50,0 mg.

Kohle mg	Carbo anim. (*Merck*) 10 Min.	Supra-Norit 10 Min.
	0,5 Proz.	
50	16,6	26,6
100	27,2	53,6
200	49,9	91,7
1000	98,3	98,0
2000	98,7	98,7

Supra-Norit adsorbiert viel stärker, bis annähernd zum doppelten Betrage, als Carbo anim. (*Merck*).

Als eine zweite Methode und zugleich als Kontrolle der ersten benutzten wir die Bestimmung des *Trockenrestes*. Dies taten wir nach Adsorption mit 10 mal bzw. 2 mal verdünnten Lösungen, aber auch dabei in 35 mal so großen Mengen. Wir benutzten Zentrifugenbecher, enthaltend 1 Liter. Nach Trocknen bei 100 bis 120° und Erreichen der Konstanz wurde der Rest verascht, und die Differenzen von Trockengewicht weniger Asche als „nicht-adsorbiertes Strychninnitrat“ angesehen. Dazu ist man berechtigt, weil die von uns benutzten Alkaloidsalze aschefrei sind (wegen der methodischen Fehler s. ein Originalprotokoll bei den Versuchen mit Morph. hydrochlor).

Kohle	Carbo anim. (*Merck*)		Supra-Norit	
	Titriert	Trockenbestimmung	Titriert	Trockenbestimmung
mg	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.
Auf 750 ccm		0,05 Proz.		
1500	66,3	61,8	86,6	87,2
3750	88,2	—	89,7	—
Auf 500 ccm		0,25 Proz.		
1000	23,5	22	40,7	42

Versuche mit Morph. hydrochl.

Eine Titration des sauren Bestandteils wie beim Strychn. nitric. ist nicht möglich. Mit allerlei von uns versuchten Indikatoren ist auch aus verständlichen Gründen kein scharfer Umschlagspunkt zu finden. Dagegen läßt sich gut das Cl als AgCl mit Kaliumchromat bestimmen.

Beispiel: Je 0,5000 g Morph. hydrochl. in 100,0 Aqua dest. 10,0 ccm verbrauchen 13,6, bzw. 13,65, bzw. 13,60, bzw. 13,65 0,00966 $AgNO_3$; gef.: 49,60 bzw. 49,79, bzw. 49,60, bzw. 49,79; Mittel 49,7 mg; ber.: 50,0 mg.

Kohle mg	Carbo anim. (*Merck*) 10 Min.	Supra-Norit 10 Min.
50	3,1	12,5
100	10,7	25,8
200	20,0	49,3
1000	43,1	63,9

Auch hier adsorbiert die Supra-Norit viel stärker, bis zum vierfachen Betrage. Daran änderte sich auch nichts, als wir noch größere Mengen Kohle benutzten, um die Adsorption noch vollständiger werden zu lassen; dagegen bekam man aber bei beiden Kohlesorten den Eindruck, als würde Morphium nur bis zu einem gewissen Maximum adsorbiert.

Siehe folgenden Versuch.

mg	Carbo anim. (*Merck*)	Supra-Norit
500	49,4	72,3
2000	24,2	52,5
3000	12,8	51,2

Da diese Zahlen in Widerspruch zu den früheren Ergebnissen zu stehen schienen, haben wir die Versuche noch ein drittes und viertes Mal wiederholt, ohne jedoch andere Ergebnisse zu erhalten.

Eine Zusammenstellung ergibt also folgendes:

mg	Carbo anim. (*Merck*)	Supra-Norit		mg	Carbo anim. (*Merck*)	Supra-Norit
50	3,1	12,5		1000	43,1	63,9
100	10,7	25,8		2000	24,2	52,5
200	20,0	49,3		3000	12,8	51,2
500	49,4	72,3	Maximum			

Es schien also ein Maximum der Adsorption für Morphin hydrochlor. zu liegen bei 500 mg Kohle.

Mit 0,2 Proz. Morphin. hydrochl. wurde ein ähnliches Resultat erhalten.

mg	Supra-Norit		mg	Supra-Norit
100	41,7		1000	42,2
200	63,6	Maximum	2000	37,8
500	54,5		3000	39,7

Wir haben leider ziemlich viel Versuche gemacht, um das „Maximum ?“ der Adsorption zu erklären. Wir wollen den Leser aber nicht damit aufhalten, da sie in gewissem Sinne umsonst angestellt sind. Die schließlich von uns gefundene Erklärung war nämlich schon

seit 5 Jahren von *Michaelis* und *Rona*[1]), ja eigentlich bereits vor 16 Jahren von *Freundlich* und *Neumann*[2]) angegeben.

Als wir nämlich nicht das Cl, sondern das Alkaloid selbst durch die Stärke des Niederschlags durch Alkaloidreagentien oder durch den Trockenrest bestimmten, fanden wir, daß die Adsorption regelmäßig verläuft, in dem Sinne, daß beim Gebrauch größerer Mengen Kohle, sowohl mit Supra-Norit, wie mit Carbo animalis (*Merck*) absolut mehr adsorbiert wird.

Das Maximum ist nur scheinbar, entstanden dadurch, daß ein Austausch von Kationen stattfindet, nämlich daß zum Teil an Stelle des adsorbierten Morphins Ca vielleicht auch andere, leichter bewegliche Kationen austreten.

Daß diese Erklärung von *Michaelis* und *Rona*, für ihre Versuche mit Adsorption von Farbstoffen gefunden, auch für unseren Fall zutrifft, dafür folgende Angaben; sie beziehen sich nur auf Supra-Norit, da ja gerade die Carbo animalis (*Merck*) von den genannten Autoren untersucht war.

1. Ein Ausschwemmen von Cl aus der Kohle hat nicht statt, nicht in Form von Säure, auch nicht von Salzen.

a) Was die Säure betrifft, so läßt sich weder mit Indikatoren noch elektrometrisch der geringste Unterschied in der H-Ionenkonzentration von der ursprünglichen Lösung und dem Filtrat nach der Adsorption an z. B. 500 mg Supra-Norit nachweisen.

b) Salze. Beim Schütteln mit Aqua dest. wurden in 4 ccm der Filtrate von Versuchen mit 200 bzw. 500 und 1000 mg Supra-Norit Cl-Mengen gefunden, entsprechend 0,16 bzw. 0,24 und 0,24 ccm n/100 $AgNO_3$ und beim Aufkochen mit einer Sodalösung im Filtrate von 3 g Supra-Norit Cl entsprechend 0,65 ccm n/100 $AgNO_3$.

In den folgenden Tabellen sind die Ergebnisse angegeben mit und ohne Berücksichtigung der auf diese Weise in der Kohle gefundenen Cl-Zahlen nach Adsorption einer 0,5proz. Morph. hydrochl.

Supra-Norit	Verbraucht n/100 $AgNO_3$	Adsorption also			
		ohne		*mit*	
		Berücksichtigung des Cl in der Kohle			
		ausgedrückt in		ausgedrückt in	
mg	ccm	ccm n/100 $AgNO_3$	Proz.	ccm n/100 $AgNO_3$	Proz.
200	2,82	2,68	49	2,84	52
500	1,51	3,99	72	4,23	77
1000	2,00	3,50	64	3,74	68
3000	2,66	2,84	51	3,49	63
0	5,50	—	—	—	—

Der Gehalt an Cl als HCl oder Salz in der Kohle, soweit er sich durch Aqua ausspülen läßt, kann also für die merkwürdige Erscheinung.

[1]) Diese Zeitschr. **97**, 57, 1919.
[2]) Zeitschr. f. physikal. Chem. **67**, 538, 1909.

daß größere Mengen Kohle weniger Morph. hydrochl. als kleinere Mengen adsorbieren, insofern die Adsorption durch die Verringerung des Cl in der Flüssigkeit bestimmt wird, keine Erklärung geben.

2. Positiv spricht für die „äquivalente Adsorption oder Austauschadsorption“, wie sie *Michaelis* und *Rona* nannten, folgender Befund.

Bei Schütteln von Kohle mit Aqua dest. bekommt man eine schwache Ca-Reaktion (mit Oxalat), nach Schütteln mit Essigsäure eine sehr starke.

Über die quantitativen Verhältnisse geben folgende Bestimmungen ein Bild. Hierbei wurde der Trockengehalt des nicht adsorbierten Teiles bestimmt.

5 ccm 0,5proz. Morph.-hydrochl.-Lösung, titriert mit $AgNO_3$, ergeben 6,7 ccm n/100, d. h. 25,2 mg Morph. hydrochl. 20 ccm dieser Morph.-hydrochl.-Lösung werden mit 200 bzw. 500 bzw. 1000 mg Supra-Norit geschüttelt und darauf 10 Minuten stehengelassen. Nach Zentrifugieren, 10 Minuten lang, abfiltriert, so wie gewöhnlich. In 5,0 ccm wird der Gehalt an Trockensubstanz bestimmt, nach Trocknen bei 100°.

a) Supra-Norit 200 mg. Trockensubstanz 8 mg od. 32 Proz. nicht adsorb.
b) „ 500 „ „ 0,8 „ „ 3,2 „ „ „
c) „ 1000 „ „ 1,2 „ „ 4,8 „ „ „

Die Trockensubstanz wurde dann wieder in Aqua dest. gelöst und in dieser Lösung Cl und Ca bestimmt. (Ca wurde als Ca-Oxalat gefällt und mit $KMnO_4$ titriert.) Die Ergebnisse waren folgende (bei den für Cl angegebenen Zahlen ist die durch Auswaschen der Kohle gefundene Menge Cl berücksichtigt):

Supra-Norit	Cl in der Trockensubstanz	Ca in der Trockensubstanz	$CaCl_2$ bezogen auf	
mg	mg	mg	Cl	Ca
200	1,11	0,14	1,73	0,38
500	0,59	0,23	0,98	0,63
1000	0,80	0,35	1,25	0,97

Man hat hierbei zu berücksichtigen, daß bei Anwendung von 200 mg Supra-Norit noch ein ziemlich großer Anteil des Morph. hydrochl. nicht adsorbiert wird, so daß die für $CaCl_2$ gefundene Zahl, auf Cl bezogen, viel zu hoch ist. Dies trifft in geringerem Maße auch für 500 mg Supra-Norit noch zu. Bei 1 g Kohle jedoch ist praktisch alles adsorbiert. Die für $CaCl_2$ gefundene Zahl, berechnet nach dem Cl, ist jedoch auch hier noch höher als die nach dem Ca-Gehalt berechnete.

Ein Teil des gefundenen Cl wird also wohl sicher an Ca gebunden sein, der Rest vielleicht an andere Kationen. Das letzte haben wir aber nicht weiter untersucht. —

Was nun den Vergleich zwischen den beiden Kohlesorten hinsichtlich ihrer Adsorption von Morphin betrifft, so können hierzu nach dem hier Besprochenen die oben angeführten Zahlen, wobei Cl als Indikator für die Morphiumadsorption benutzt wurde, nur mit einem

gewissen Vorbehalt dienen. Denn es ist ja möglich, bei dem großen Aschengehalt der Carbo animalis (*Merck*) sogar wahrscheinlich, daß bei der letzteren mehr Ca hinausgeht und so mehr Cl im Titrat erscheinen läßt.

Relativ rohe Methoden zeigten, daß beide Kohlen mit 1 g ziemlich alles adsorbieren, wenigstens ließ sich mit Alkaloidreagenzien $FeCl_3$ + Diazobenzolsulfonsäure und der hier empfindlichsten $KJ-HgJ_2$ kein Morphium mehr nachweisen. Mit kleinen Kohlemengen läßt sich durch die Niederschlagsstärken eine ganz befriedigende Skala finden, wobei man etwa folgende Unterschiede erhält:

0,5 Proz.

Kohle mg	Carbo anim. (*Merck*) Proz.	Supra-Norit Proz.
100	—	50
200	$<$ 50	67
500	75	$>$ 75

Genauere Ergebnisse liefert wieder die Bestimmung des Trockenrestes. Um den methodischen Fehler kennenzulernen, geben wir ein Originalprotokoll wieder.

Je 1 Liter fassende Zentrifugenbecher werden mit 150 ccm 0,5 proz. Morph. hydrochlor. und den angegebenen Mengen Kohle beschickt. Nach 1 Min. Rühren 10 Min. stehen lassen, danach 10 Min. zentrifugieren (3000 Touren). Je 25 ccm Filtrat bei 100°C dann bei 120°C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet, danach verascht, (dies durch die relativ großen Gefäße etwas schwierig). 25 ccm der ursprünglichen Lösung mit 125 mg Morph. hydrochlor. enthalten 107,1 mg Trockensubstanz und 0,0 mg Asche. (S. Tabelle auf folgender Seite).

Ferner haben wir auch noch Versuche mit 0,05 und 0,25 Proz. Morph. hydrochl.-Lösungen gemacht, auch wiederum um den Verhältnissen in vivo noch näher zu kommen, wo sehr starke Verdünnungen vorkommen werden.

Wir benutzten je 750 ccm und zu den Analysen je 50 bzw. je 25 ccm Morph. hydrochlor.

Kohle mg	Carbo anim. (*Merck*)	Supra-Norit	Kohle mg	Carbo anim. (*Merck*)	Supra-Norit
	0,05 Proz.	0,05 Proz.		**0,25 Proz.**	**0,25 Proz.**
2500	35	83	2500	**22**	**37**
5000	72	82	5000	**44**	**65**
7500	75	86	7500	**55**	**82**

Die Versuche mit *Giften* ergeben also ausnahmslos, daß die Pflanzenkohle Supra-Norit stärker, zum Teil erheblich stärker als die mit Recht als gut bekannte Tierkohle Carbo animalis (*Merck*) adsorbiert.

Mehr der Vollständigkeit halber haben wir den Vergleich noch auf die üblichen Adsorptionsmaßstäbe: Adsorption von Methylenblau und Jod ausgedehnt.

Adsorption von Methylenblau.

Mit dem von *Wiechowski*[1]) angegebenen Versuchsverfahren hatte die Carbo animalis (*Merck*) — weiter als (C. a. M.) bezeichnet — einen Wert von 19, die von Supra-Norit — weiter als (S.-N.) abgekürzt — einen Wert von 25; d. i. 19 bzw. 25 ccm einer 0,15 proz. Methylenblaulösung werden von 0,1 g bei 120^0 getrockneter Kohle nach 1 Minute Schüttelns so vollständig adsorbiert, daß die Farbe „noch gerade sichtbar" ist. Das „noch sichtbar" ist natürlich unsicher und bedeutet in diesem Falle, daß in unseren Versuchen auch das Filtrat nur gerade noch einen Schimmer von blau hatte. Ein Filtrat von einem Versuch mit 30 ccm und 0,1 g Supra-Norit, bei dem die Lösung nach der Adsorption schwach blau war, zeigte eine sehr starke Verfärbung. Beim quantitativen Vergleich mit einer Skala ergab sich, daß dies Filtrat allerdings auch nur $^1/_{1000}$ so stark als die ursprüngliche Lösung gefärbt, also praktisch alles adsorbiert war.

Das von *Wiechowski* beschriebene Verfahren ist, wie er selbst angibt, ungenau, aber auch nach unserer Meinung zu orientierenden Versuchen sehr praktisch. Genauer ist die von *Joachimoglu*[2]) angegebene

Kohle	Gewicht in mg						Adsorbiert		
mg	Trockensubstanz		nach Veraschen		also wasserfrei Morph. hydrochlor.		Proz.	Proz.	Mittel Proz.
C. a. M. Nr. 22213	a	b	a	b	a	b	a	b	
750	89,2—90,4	92,0—91,0	1,2—2,0	1,9—1,1	88,0—88,4	90,1—89,9	17,9—17,5	15,9—16,0	**16,8**
1500	71,8—70,4	68,8—68,0	2,8—2,0	0,7—1,0	69,0—68,4	68,1—67,0	35,6—36,0	36,4—37,5	**36,4**
3750	28,5—30,8	32,4—33,2	2,9—2,8	1,4—2,0	25,6—28,0	31,0—31,2	76,0—73,9	71,0—70,9	**73,0**
7500	15,0—13,8	14,4—14,6	1,0—0,8	0,9—1,4	14,0—13,0	13,5—13,2	87,0—87,9	87,4—87,7	**87,5**
Supra-Norit									
750	73,1—72,8	70,0—71,0	1,0—0,8	1,0—0,2	72,1—72,0	69,0—70,8	32,7—32,8	35,6—33,9	**33,8**
1500	42,0—41,3	41,1—42,8	1,0—0,8	1,5—0,5	41,0—40,5	39,6—42,3	61,7—62,2	63,0—60,5	**61,8**
3750	12,0—10,8	10,8—13,1	1,6—0,9	1,1—0,9	10,4— 9,9	9,7—12,2	90,3—90,8	91,0—88,6	**90,2**
7500	13,1—16,0	17,0—15,0	1,0—0,8	1,0—0,8	12,1—15,2	16,0—14,2	88,7—85,8	85,1—86,8	**86,6**

Die größte Abweichung also zwischen zwei Proben aus demselben Becher ist 2,9 Proz., zwischen den Mitteln der Kontrollen a und b 4 Proz.

[1]) l. c.
[2]) Diese Zeitschr. **77**, 1, 1916.

Versuchsanordnung: 50 ccm der 0,15proz. Methylenblaulösung wurden mit 0,1 g S.-N. bzw. C. a. M. während 30 Minuten geschüttelt und darauf 10 Minuten zentrifugiert. Die Bestimmung des Methylenblaugehalts in der obenstehenden Flüssigkeit geschah dann kolorimetrisch (mit *Autenrieths* Kolorimeter).

S.-N. adsorbierte 85 Proz., C. a. M. noch nicht ganz 50 Proz.

Adsorption von Jod.

Das nicht adsorbierte Jod wurde in gewöhnlicher Weise mit $Na_2S_2O_3$ titriert.

Auch hier ebenso wie bei Methylenblau haben wir die Mengen Kohle nicht gewechselt, sondern nur mit 0,1 g Kohle gearbeitet, dagegen mit Rücksicht auf etwaige Adsorptionskurven die Mengen der Jodlösungen mehr als in den anderen Versuchen variiert. Es läßt sich übrigens damit doch keine regelmäßige Kurve darstellen, worauf schon *Kolthoff*[1]) hingewiesen.

Bei den Versuchen mit Jod wurde noch zum Vergleich eine Probe „*Kahlbaum*scher Knochenkohle (gepulvert)" herangezogen, die sich in den in-vivo-Versuchen *Joachimoglus*[2]) mit Strychnin als die beste gezeigt hatte und bei seinen in-vitro-Versuchen mit n/10 J-Lösungen jedenfalls auch zu den besseren gehörte. (Wir konnten durch die Freundlichkeit von Prof. *Joachimoglu*, dem wir auch hier nochmals bestens danken, eine Probe derselben Kohlesorte, die er zu seinen Versuchen zurzeit gebraucht hatte, benutzen.)

Jodium.

	Carbo anim. (*Merck*) 100 mg	Supra-Norit 100 mg	Knochenkohle *Kahlbaum* 100 mg
0,02 N	—	96,8 Proz.	—
0,05 N	—	88,8 "	—
0,1 N	42,1 Proz. *)	59,8 " *)	18 Proz.
0,2 N	18,7 "	31,7 "	10 "
0,4 N	—	12,2 "	—
0,5 N	7,8 Proz.	9,2 "	5 Proz.
1,0 N	4,8 "	4,8 "	3 "

*) Mittel aus je 4 Versuchen.

Auch hier adsorbiert S.-N. bei weitem am stärksten; die Knochenkohle bleibt auch gegenüber der C. a. M. sehr zurück.

Wasser und Aschengehalt.

Worauf das verschiedene Adsorptionsvermögen beruht, können wir nicht sagen, zumal uns die Herstellungsverfahren nicht genug bekannt sind. Verschiedener *Wasser-* und *Aschengehalt* spielt wohl

[1]) l. c.

[2]) Diese Zeitschr. **134**, 493, 1923.

eine gewisse Rolle; ob entscheidend, wissen wir nicht. Beides sind keine konstanten Größen. Das Wasser ist auch nicht einmal für ein und dieselbe Probe, wenn sie unter gewöhnlichen Umständen aufbewahrt wird, völlig gleich, der Aschengehalt aber nach der Art der Bereitungsverfahren auch nur in gewissen Grenzen.

Für die Wasserbestimmungen wurde die Kohle bei 100° bis zur Konstanz getrocknet, bei weiterem Trocknen bei 120° änderte sich das Gewicht nicht, auch in einzelnen Fällen nicht bei weiterer Erhitzung bei 150°. Die angegebenen Zahlen für Wasser wie für Asche sind das Mittel aus zwei oder mehr Bestimmungen.

	Wasser Proz.	Asche Proz.
Carbo. anim. (*Merck*) Originalverpackung*)	32,9	7,2
„ „ „ „	24,5	4,3
„ „ „ „ „neu“*) . . .	28,6	1,05
„ „ „ Großhandel*)	24,9	4,8
„ „ „ „	14,7	4,6
Supra-Norit	10,2**)	0,44

*) Zu den Adsorptionsversuchen nicht benutzt. — **) Mittel aus vier Doppelbestimmungen im Laufe der Versuche.

Wie schnell der Wassergehalt wieder zunimmt, dafür folgende Beispiele:

Die getrockneten Proben wurden in halbbedeckten Wiegegläschen in einem nicht beschickten Exsikkator belassen, dessen Deckel selbst ein klein wenig offen stand. Der Exsikkator blieb im Laboratorium.

	Beim Trocknen verschwunden = 100 Proz.	Von dem Verschwundenen zurück in Proz. nach			
	Proz.	4 Stdn.	20 Stdn.	72 Stdn.	8 Tagen
Carbo anim. (*Merck*) .	24,5	7	16	26	98
„ „ „ .	24,9	—	15	15	36
„ „ „ .	32,9	—	79	89	90
„ „ „ .	28,6	19	98	98	98
Supra-Norit	7,0	12	68	70	86

Die genauen Analysen der Asche von einer Carbo anim. (*Merck*) Nr. 22213 und von Supra-Norit ergeben das Folgende:

Die Asche der beiden Kohlen wurde einige Male mit Salzsäure eingedampft, der Trockenrest in verdünnter Salzsäure aufgenommen und danach der unlösliche Rest bestimmt, während das Calciumoxyd nach Neutralisation und Fällung mit Ammoniumoxalat gefunden wurde:

	In Salzsäure unlösliches Silikat Proz.	Calciumoxyd Proz.
Carbo anim. (*Merck*)	68	7
Supra-Norit	24	42

Qualitativ war in der Asche beider Kohlen Eisen nachzuweisen, in der Carbo animal. *Merck* nur in Spuren.

Die für die *Merck*sche Kohle gefundenen Zahlen stimmen mit denen von *Michaelis* und *Rona* überein. Sie fanden etwa 20 Proz. Wasser und 7 Proz. Asche ähnlicher Zusammenstellung als von uns angegeben. Aus dem obigen geht hervor, daß Supra-Norit viel reiner als die von *Michaelis* und *Rona* wohl mit Recht seinerzeit als reinste Kohle bezeichnete Carbo anim. (*Merck*) ist. Die Carbo anim. „neu" ist in der von uns untersuchten Probe, was den Aschengehalt betrifft, reiner als die damalige von *Michaelis* und *Rona* benutzte *Merck*sche Kohle. —

Zum Schluß wollen wir nochmals auf die im Eingang der Mitteilung erwähnte *praktische Bedeutung* der *Größe des Adsorptionsvermögens* zurückkommen. Denn nur in dieser praktischen Bedeutung findet sich die Rechtfertigung und die Notwendigkeit zu solch vergleichenden Untersuchungen wie die vorliegende. Leicht kann man denken: man müsse doch mit einer größeren Menge einer weniger stark adsorbierenden Kohle ebensogut zum Ziele kommen wie mit einer geringeren Menge der stärkeren Kohle; man braucht also dem Patienten nur mehr zu geben; das „mehr" ist doch nicht schlimm, da die Kohle ja ein harmloses Mittel ist. Und doch ist dieser Gedankengang keineswegs richtig.

Wiechowski, der wohl mit Recht bei Vergiftungen große Mengen Kohle als allein zweckmäßig empfohlen hat, wird in der Praxis wahrscheinlich auch kaum über 20 bis 40 g hinausgehen können. Nach eigenen Versuchen mit Kohle müssen wir sagen, daß dies bereits recht unangenehme Mengen sind und bei schwer Vergifteten wohl nur mit großen Schwierigkeiten beizubringen. Jedenfalls ist an dieser Grenze von 40 g wohl festzuhalten. Um sich nun ferner über die Größenordnung, was im Körper von Kohle geleistet werden kann, zu orientieren, muß man noch folgendes bedenken. Gegenüber der „Adsorptionskraft" des Darmes (womit wir alle die Momente zusammenfassen wollen, die in corpore die definitive Festlegung eines Giftes an Kohle hindern) müssen viel größere Quantitäten Kohle in vivo gegeben werden, als sie in vitro zur Adsorption giftiger Mengen nötig sind. *Wiechowski* meint, daß es bei den besseren Adsorbentia sicher das 14fache sein wird. —

Bei unseren Versuchen kamen wir auch einer bekannten Knochenkohle entgegen. Nur zum Vergleich mit den beiden besseren Kohlen sei nochmals eine Tabelle angeführt, wobei die drei Kohlearten gegenüber 0,5 proz. Strychninnitrat verglichen wurden.

mg	Carbo anim. (*Merck*) Proz.	Supra-Norit Proz.	Knochenkohle Proz.
50	17	27	2
100	27	54	4
200	50	92	8
1000	98	98	15
2000	99	99	20

Noch deutlicher werden die Unterschiede, wenn wir diese Zahlen in einer Kurve veranschaulichen, am besten, wenn wir dann auf der Ordinate den *nicht* adsorbierten Anteil in Prozenten angeben.

In der Kurve ist durch eine Parallele zur Abszissenachse angegeben, welche Kohlenmengen nötig sind, um so viel zu adsorbieren, daß der nicht adsorbierte Rest unter der tödlichen Dosis bleibt.

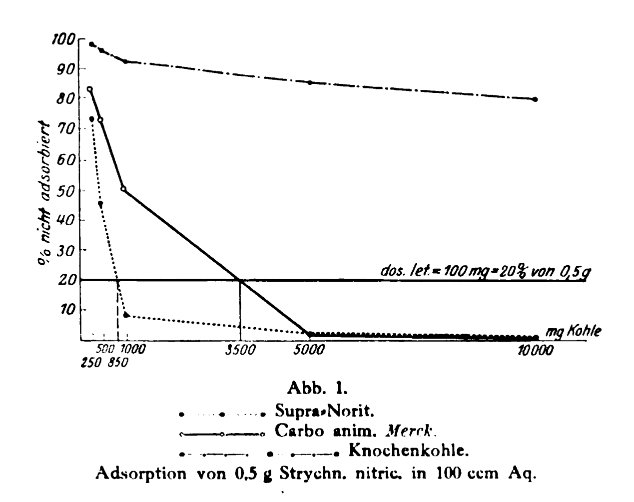


Abb. 1.
Supra-Norit.
Carbo anim. *Merck*.
Knochenkohle.
Adsorption von 0,5 g Strychn. nitric. in 100 ccm Aq.

Die praktische Bedeutung läßt sich aus der Kurve leicht entnehmen.

Würde sich z. B. jemand mit $^1/_2$ g Strychninnitrat in 100 ccm vergiften, dann würden etwa die folgenden Mengen der Kohlen erforderlich sein, um die Entgiftung wenigstens bis an die tödliche Dosis (für den Menschen wohl auf 100 mg zu setzen) durchzuführen. In vitro sind von dem S.-N. etwa 850 mg, von der C. a. M. 3500 mg, von der Knochenkohle unbekannt große Mengen erforderlich. Da nach den besprochenen *Wiechowski*schen Feststellungen in vivo von einer guten Kohle sicher 14mal so viel nötig ist wie in vitro, würden diese Zahlen praktisch lauten: 12 und 50 g und von der Knochenkohle würde eine ungeheure Menge nötig sein, um dann wahrscheinlich auch noch zu versagen. Durch größere Verdünnung mit Aqua dest. ist das Ergebnis wohl günstiger zu gestalten, aber deutlich wird, daß die Chancen für

den Erfolg sehr ungleich verteilt sind. Dem gegenüber bleibt der Einwand: Auch in vitro „schlechtere" Kohlen haben gute therapeutische Ergebnisse, ja zum Teil günstigere, als die „besseren" Kohlen gezeigt. Wir haben uns auf Grund des in der Literatur vorliegenden Materials, jedenfalls, was den Effekt gegenüber per os gegebenen Giften anlangt, davon nicht überzeugen können und glauben im Augenblick mit *Wiechowski* daran festhalten zu sollen: Die Kohle, welche am stärksten chemisch bekannte Stoffe in vitro adsorbiert, ist gegen diese Gifte in vivo auch am meisten anzuraten.

Zusammenfassung.

Es wird eine neue Pflanzenkohle „Supra-Norit" mit einer als gut bekannten Tierkohle „Carbo animalis (*Merck*)" hinsichtlich ihres Adsorptionsvermögens verglichen, und zwar gegenüber in praxi vorkommenden Giften, wie Oxalsäure, Kleesalz, Sublimat (mit oder ohne Zusatz von Kochsalz), Strychninnitrat und Morph. hydrochl., ferner gegenüber Methylenblaulösungen und Jod.

Die Mengen der Kohle und die Konzentrationen der untersuchten Substanzen wurden variiert.

Supra-Norit erwies sich in allen Fällen als stärker adsorbierend.

Bei den Versuchen mit Morph. hydrochl. wurden die Erfahrungen von *Michaelis* und *Rona* hinsichtlich der Verdrängung von Ca aus der Kohle bestätigt.

Gasometrische und spektroskopische Beobachtungen bei der Met-Hämoglobinbildung.

Von

Wilhelm Klein.

(Aus dem tierphysiologischen Institut der Landwirtschaftlichen Hochschule, Berlin.)

(Eingegangen am 29. Januar 1925.)

I. Die Auffassungen über den Chemismus der Gasbindung und der Met-Hb.-Bildung.

W. Heubner[1]) hat festgestellt, daß Met-Hb.-Bildung *als Oxydationsvorgang* durch reduzierende Substanzen, z. B. Hydrochinon, nur nach vorhergehender Oxydation, in diesem Falle zu Chinon erfolgen kann. Es sind damit alle die reduzierenden Agenzien, die *Dittrich*[2]) und ihm nachfahrend *O. Leers*[3]) als Met-Hb.-Bildner bezeichnete, keine direkten Bildner. Um einige Substanzen zu nennen, so erfolgt nach ihnen Met-Hb.-Bildung sofort durch Ferricyankali und Ferrocyankali, nach einigen Stunden durch Oxalsäure, Eisenvitriol, schwefelsaures Eisenoxydul, Eisenchlorür. Wenn also, verglichen mit dem Beispiel des Chinons, Ferrosalze met-hb.-bildend wirken sollten, dann müßten sie erst, wobei der Blutfarbstoff als Katalysator wirkt, aus der Ferrostufe zur Ferristufe übergeführt, also oxydiert werden. Es kommt weiter noch in Frage, wieweit hierbei das Oxy-Hb. seinen Sauerstoff an die zu oxydierende Substanz abgibt.

Die Anschauung, daß die Met-Hb.-Bildung ein Oxydationsvorgang ist, wird von vielen Forschern vertreten. Besonders eingehend hat *Küster*[4]) sich mit den chemischen Vorgängen bei der Met-Hb.-Bildung beschäftigt. Das Eisen befindet sich danach im Met-Hb. in einer höheren Oxydationsstufe, das des Oxy-Hb. und reduzierten Hb. in der gleichen Oxydationsstufe wie sie in den Eisenoxydulsalzen gegeben ist. An dieser Oxydations-

[1]) *W. Heubner, R. Meier, H. Rhode*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **109**, 1923.

[2]) *Dittrich*, ebendaselbst **29**, 1891.

[3]) *O. Leers*, diese Zeitschr. **12**, 1908.

[4]) *W. Küster*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **66**, 1910.

stufe des Eisens haftet die Fähigkeit des Blutfarbstoffs, Sauerstoff molekular zu binden. Das Met-Hb. nimmt eine Mittelstellung zwischen Hb. und Oxy-Hb. ein, und hierfür sprechen zunächst alle Bildungsweisen desselben.

a) Aus Oxy-Hb. bildet es sich spontan — hierbei wird ein Teil des schon vorhandenen Sauerstoffs fest gebunden — oder unter dem Einfluß von Oxydationsmitteln, wobei es zunächst zur Abspaltung des locker molekular gebundenen Sauerstoffs kommt, während der fest gebundene Sauerstoff von dem zugefügten Mittel stammt, das also eine Reduktion erleidet, wie dies für das Ferricyankalium von *Zeynek* und *Haldane* nachgewiesen wurde.

b) Aus Hb. kann sich Met-Hb. nur bilden, wenn ein oxydierendes Agens zugegen ist, während es

c) aus Oxy-Hb. auch durch reduzierende Mittel erhalten wird. So bewirkt nach *Hoppe-Seyler* ein stark mit Wasserstoff beladenes Palladiumblech diese Umwandlung. Sie wurde von ihm dahin gedeutet, daß Met-Hb. weniger Sauerstoff enthalten müsse als Oxy-Hb. Der Versuch ist sogar ein typisches Beispiel für die Wirkung eines Superoxyds: $AO_2 + B \longrightarrow AO + BO$, hier ist der Wasserstoff der Akzeptor B und der Verlauf der Reduktion ist zu formulieren: $Hb.O_2 + 3H = Hb.OH + H_2O$. Das Moloxyd hat den Sauerstoff „hälftig" abgegeben, der Autoxydator ist selbst oxydiert worden. [Gerade über die unter c) angeführte Bildungsmöglichkeit haben die *Heubner*schen Untersuchungen auf richtige Wege geführt[1])]. Bei der Reduktion des Met-Hb. endlich bildet sich nur Hb. Die Annahme, daß die Reduktion des Met-Hb. zum Hb. über das Oxy-Hb. führe, ist unbegründet.

Nach ihren Ergebnissen schließen sich *Lipschitz* und *Weber*[2]) den Schlußfolgerungen *Heubners* und *Küsters* an: daß Met-Hb.-Bildung auf einer Valenzvermehrung durch Oxydation beruhe. Doch fanden sie nach ihrer Meinung auch Ausnahmen von der Regel. So vermag Dimethylanilinoxyd, das ebenfalls in Valenzvermehrung bestehende Oxydationen herbeiführt, kein Met-Hb. zu bilden. Ebenso scheint ihr Befund, daß auch α-Methylhydroxylamin $NH_2O.CH_3$ ein starker Met-Hb.-Bildner ist, mit der *Küster*schen Auffassung schwer vereinbar. Denn nach der Formel ist eine Ablösung oder Reduktion des an N und C gebundenen Sauerstoffatoms nicht recht vorstellbar. Es fehlt jede ungezwungene Erklärung für die prompte Met-Hb.-Bildung auch aus reduziertem Hb.

In einer kritischen Studie über die Wertigkeit des Metalls in den Blutfarbstoffen und über die Bestimmung ihres Gasbindungsvermögens stellt *Manchot*[3]) im strikten Gegensatz zu *Küster* die Ansicht auf, daß im Hb. (wie auch im Hämochromogen) das Eisen in der Ferriform enthalten sei.

Besonders auffällig ist in *Manchots* Versuchen die starke Zunahme des Gasbindungsvermögens des reduzierten Hb. bei Verdünnungen mit schwachen Alkalilösungen. Schon eine geringe Verdünnung (1,3) steigert die Absorption, so daß auf 1 Atom Eisen eher 2 Atome O_2 als 1 Atom zu rechnen sind. In diesem Zusammenhang darf an die vom *Verfasser*[4])

[1]) Er faßt den Begriff noch etwas weiter: Vom Luftsauerstoff, der absorbiert wird, wird stets die Hälfte von dem autoxydablen Körper aufgenommen, während die andere Hälfte aktiviert bzw. von dem Körper aufgenommen wird, der durch die Vermittlung des Autoxydators oxydiert wird.

[2]) *W. Lipschitz* und *J. Weber*, H. S. Zeitschr. f. physiol. Chem. **132**, 1924.

[3]) *W. Manchot*, ebendaselbst **70**, 1910.

[4]) *W. Klein*, Klin. Wochenschr., 3. Jahrg., Nr. 13.

beobachtete Erscheinung bei der Ammoniakhämolyse von Blut, das zwar noch frisch war, aber bereits trotz Schüttelns mit Luft durch geringe Mengen reduzierten Hb. einen Stich ins Violette aufwies, gedacht werden. Beim Hämolysieren, wodurch eine Verdünnung ebenfalls eintrat, wurden nicht geringe Mengen Sauerstoff aus dem Gasraum des Birnchens des Barcroftapparates vom Blut aufgenommen, der aber nicht durch den Blutfarbstoff absorbiert worden war, da er durch Ferricyanid nicht wieder ausgetrieben werden konnte; im Gegenteil, die Gesamtmenge O_2 war geringer als in dem nicht mit Ammoniak hämolysierten, aber durch die gleiche Menge Lösungsmittel (destilliertes Wasser) verdünnten Blut.

Zum Schluß trennt *Manchot* den Begriff: Größe des chemischen Gasbindungsvermögens des Blutfarbstoffs von dem, der in der Frage liegt: Wieviel Sauerstoff ist im natürlichen, gesättigten Blut enthalten? Da der im allgemeinen gefundene Wert, nämlich 1 Mol Sauerstoff auf 1 Atom Eisen im gesättigten Blut auch als richtig von *Manchot* anerkannt wird, so nimmt er — auf Grund seiner Verdünnungsversuche an reduziertem Hb. — an, daß im natürlichen Blute vom gesamten Bindungsvermögen nur etwa die Hälfte bis zwei Drittel — bald etwas mehr, bald etwas weniger — gesättigt ist. Ein Überschuß der gasbindenden Substanz wäre deshalb nicht nutzlos, weil beim Sättigen in der Lunge die Geschwindigkeit der Bindung des Sauerstoffs nach dem Massenwirkungsgesetz nicht allein proportional dem Sauerstoffdruck, sondern auch der Konzentration der sauerstoffbindenden Substanz ist.

Vom kolloidchemischen und theoretischen Standpunkt aus untersucht *Wo. Ostwald*[1]) auf Grund der Forschungen von *Chr. Bohr* und *A. Löwy* die Frage über die Natur der Sauerstoffbindung im Blute mit dem Ergebnis, daß das Blut mit den Blutgasen keine chemischen Verbindungen, d. h. solche in stöchiometrischen Verhältnissen eingeht. Es gibt keine konstante Bindung, CO_2 hat eine sauerstoffaustreibende Kraft, auch jede andere Säure. Der nach der Adsorptionsformel berechnete O_2-Wert für einen reversiblen Sauerstoffbindungsvorgang stimmt mit dem beobachteten bei einem gegebenen Druck überein. Ebenso verhält es sich mit den beobachteten und berechneten Werten, dargestellt in Prozenten der Sauerstoffsättigungen bei verschiedenen Drucken.

Bei experimentellen Studien betrachten *Herzfeld* und *Klinger*[2]) die Chemie des Blutfarbstoffs ebenfalls vom kolloidchemischen Standpunkt aus. Danach hätten wir es beim Blutfarbstoff mit rein adsorptiven, d. h. auf Nebenvalenzen beruhenden Bedingungen zu tun, die schon durch geeignete Lösungsmittel getrennt werden können. Lösungsvermittler ist z. B. Natriumhydrocarbonat. Das reduzierte Hb., von ihnen Hämochrom genannt, ist der eigentliche und unversehrt bleibende Farbstoff. Oxy- und Met-Hb., Säure- oder Alkalihämatin rufen keine irgendwie tiefergreifenden Veränderungen hervor. Es kann sich nur um Adsorptionserscheinungen handeln, um Anlagerungen der betreffenden Gas- bzw. Säuremoleküle. *Met-Hb.* verdankt nicht einer eigentlichen Umwandlung, sondern bloß einer Änderung der Löslichkeitsverhältnisse seine Entstehung. Speziell erscheint es nicht möglich, dieses Met-Hb. als ein Oxydationsprodukt des Hämochroms aufzufassen, entstanden durch festere Bindung eines O-Atoms. Dagegen spricht unter anderem der Umstand, daß auch eine Sodalösung,

[1]) *Wo. Ostwald*, Zeitschr. f. Chem. u. Industrie der Koll. 2, 264, 1908.
[2]) *E. Herzfeld* und *R. Klinger*, diese Zeitschr. **100**, 1919.

also ein nicht zu den Reduktionsmitteln gehöriger Stoff, das Spektrum zurückbildet. Bei wirklicher Oxydation, z. B. durch H_2O_2 wird das Hämochrom auch farblos und zerstört. Met-Hb.-Bildung ist speziell keine Oxydation, sondern bloß eine Art von Molekülverbindung. Wie die anderen als Met-Hb. bezeichneten Derivate des Farbstoffs aufzufassen sind, ist unentschieden.

Bis zu dieser Entscheidung ist es wohl angebracht, an der Auffassung eines Bestehens einer chemischen Bindung zwischen Blutfarbstoff und Sauerstoff festzuhalten, die sich in einer positiven Zahl ausdrücken läßt. Wenn auch die Verhältniszahl zwischen Sauerstoffkapazität und Hb. bei einzelnen Methoden variiert, so liegt das sicher mehr an der Methode und in durch die methodischen Eingriffe hervorgerufenen Nebenreaktionen.

Stoddard und *Adair*[1]) haben neben eigenen Ergebnissen mit ihrer Methode, die auf der refraktometrischen Bestimmung des Hb. beruht, auch die mit den anderen zusammengestellt und kommen zu folgenden Zahlen:

nach *Hüfners* Methodik bindet 1 g Hb. . . . . 1,34 ccm O_2
„ *van Slyke* (Ferricyanid und Gasanalyse) bindet 1 g Hb. 1,26 „ O_2
„ *Haldane* (Ferricyanid) bindet 1 g Hb. . . . . 1,15 „ O_2
„ *Stoddard* und *Adairs* bindet 1 g Hb. . . . . 1,22 „ O_2

Bei Untersuchungen über den Sauerstoffgehalt des Met-Hb. kamen jüngst *Roaf* und *Smart*[2]) zu folgender Reaktionsformel des Ferricyanids auf Oxy- und reduziertes Hb. auf Grund ihres Ergebnisses, daß Oxy-Hb. bei der Verwandlung in Met-Hb. durch Säureeinwirkung (Essigsäure) die Hälfte seines dissoziablen Sauerstoffs verliert:

a) $HbO_2 + 2\,K_3Fe(CN)_6 + 2\,NaHCO_3 = Hb.O + 2\,K_3NaFe(CN)_6 + 2\,CO_2 + H_2O + O_2$.

b) $Hb + 2\,K_3Fe(CN)_6 + 2\,NaHCO_3 = Hb.O + 2\,K_3NaFe(CN)_6 + 2\,CO_2 + H_2O$.

Nach der Formel a) würden also mit 2 Vol. O_2 4 Vol. CO_2 in Freiheit gesetzt werden. Hierauf werde ich bei meinen Versuchen noch einmal verweisen müssen.

II. Gasometrische, optische und spektroskopische Beobachtungen bei der Met-Hb.-Bildung.

1. Versuchstechnik.

Trotz der Mannigfaltigkeit der Anschauungen läßt sich dank der Forschungen *Heubners* und seiner Schüler mit Sicherheit sagen, daß jede Met-Hb.-Bildung aus Oxy-Hb. mit Freiwerden von Sauerstoff aus letzterem verknüpft ist. Ob dieser Sauerstoff in Erscheinung tritt, ob er eventuell zum Teil zur Oxydation der reduzierenden Agenzien in Form einer „gekuppelten Oxydation" benutzt wird oder ob bei der Oxydation eventuell Sauerstoff aus dem Gasraum entnommen wird, läßt sich erst mit Hilfe gasanalytischer Methoden nachweisen.

[1]) *J. C. Stoddard* and *G. Adair*, The biochem. Journ. **62**, Nr. 2.
[2]) *H. E. Roaf* and *W. A. Smart*, ebendaselbst **17**, Nr. 4 und 5.

Da die Bestimmung des Blutsauerstoffs im *Haldane-Barcroft*schen Apparat mit Hilfe des Ferricyanids auf der Umwandlung des Oxy-Hb. in Met-Hb. beruht, so ist jede Zugabe eines Agens, das eventuell durch den aktivierten Sauerstoff oxydiert werden könnte, zu vermeiden. Daß z. B. Ammoniaklösung, als hämolytisches Mittel dem Blute zugefügt, den Sauerstoffwert herabsetzt, konnte früher bereits nachgewiesen werden (vgl. *Masuda*, dieses Heft).

Es wurde nun geplant, mit Hilfe des *Barcroft*schen Apparats und des Spektroskops Agenzien, die wir seit den Veröffentlichungen *Heubners* nicht mehr als direkte Met-Hb.-Bildner ansprechen dürfen, mit genuinem Blute zusammenzubringen und die Wirkungen, die sie aufeinander ausüben, an den Vorgängen der Sauerstoffabgabe bzw. Sauerstoffaufnahme zu untersuchen und optisch und spektroskopisch zu verfolgen.

2. *Adjustierung der Barcroftschen Differentialapparate.*

Es standen drei Apparate zur Verfügung, von denen zwei mit Absorptionsvorrichtung für CO_2 versehen waren; der dritte war ohne solche. Nach den Erfahrungen mit Ferricyanid ist es notwendig, die zu untersuchenden Substanzen auf hämolysiertes Blut einwirken zu lassen. Bei der Hämolyse ergab sich, daß nach Temperaturausgleich zwischen Wasserbad und Blutlösung bei gleichbleibender Temperatur CO_2 frei wurde. Als Beispiel möchte ich eine Untersuchung an Pferdeblut angeben: es wurden durch Wasser als Lysin 3 ccm CO_2 auf 100 ccm Blut entbunden. Daß diese Volumenzunahme wirklich durch CO_2 und durch keinen unvollständigen Temperaturausgleich hervorgerufen wurde, zeigte der dritte Apparat an. Während die ersten zwei, mit Absorptionsvorrichtung versehenen Apparate sich wieder auf die Ausgangspunkte einstellten, blieb die Verschiebung im dritten bestehen. Auf diese Weise konnte ohne weiteres festgestellt werden, daß die von *Roaf* und *Smart*[1]) angegebene Reaktion zwischen Oxy-Hb. und Ferricyanid, wobei auf 2 Vol. O_2 4 Vol. CO_2 entstehen sollten, nicht zu Recht besteht. Nach unseren Versuchen werden nach Zugabe von Ferricyanid ungefähr die gleichen Mengen frei wie beim Hämolysieren.

3. *Spektroskopische Beobachtungen*

machte ich mit Hilfe eines *Hüfner*schen Spektroskops und eines guten Handspektroskops. Es wurde folgendermaßen verfahren: Genau die gleiche Menge der Mischung wie in den Birnchen verbrachte ich in eine Küvette von 100 ccm Inhalt, die ich in Schrägstellung direkt über einer elektrischen Birne verschob. Es wurde so die Möglichkeit

[1]) l. c.

geschaffen, den Beginn und das Fortschreiten der Umwandlung in dünnen und dicken Schichten zu beobachten. Die erste Met-Hb.-Bildung[1]) ist in den dicksten, gerade noch durchsichtigen Schichten am ersten zu sehen.

Außerdem benutzte ich mehrere Küvetten von 100 ccm Inhalt, die mit Blutlösungen von solchen Verdünnungen gefüllt wurden, daß die Oxy-Hb.-Streifen scharf und markant zu sehen waren. Brachte man in diese Lösungen die auf met-hb.-bildende Eigenschaften zu prüfenden Lösungen, so ersah man am Farbenwechsel von hellrot zu honiggelb oder violett auch ohne Spektroskop den Ablauf der Reaktionen. Die *optischen* Erscheinungen dienten als Wegweiser für genauere Nachprüfungen.

Die Reduktion des Oxy-Hb. zu Hb. wurde mit Hilfe von Natriumhyposulfit *Merck* ausgeführt. Es genügen für solche Blutlösungen ganz geringe Mengen des Salzes. Ebenso wurde zur Reduktion des Met-Hb. zu Hb. dieses Salz benutzt.

Auf eine Beobachtung bei der zweiten Reaktion möchte ich kurz eingehen: Versetzt man frisches Blut mit 0,4- bis 0,5 proz. Ammoniaklösung oder mit ganz geringen Mengen von in Wasser gelösten Natrium nitrosum und gibt Ferricyanid hinzu, so bekommt man eine rotstichige Lösung und das spektroskopische Bild des alkalischen Met-Hb. ganz gleich in beiden Lösungen. Streut man nun spurenweise Natriumhyposulfit hinzu, bis die Farbe in Honiggelb übergeht und der kräftige Met-Hb.-Streifen im Rot allein noch besteht, so ist dies der Moment, wo eine weitere Zugabe momentan in beiden die Farbe des reduzierten Hb. hervorruft. Merkwürdig kam mir vor, daß Ammoniak auf Blut ebenso wirkt wie Natriumnitrit. Das letztere ist nun ein echter Met-Hb.-Bildner, also dürften durch Ammoniak allein bereits geringe Spuren von Met-Hb. erzeugt werden. Gibt man dagegen etwas zuviel Nitrit, so entsteht bei der Reduktion durch Natriumhyposulfit der scharlachrote Farbstoff „Hämorrhodin“, der wohl mit dem Stickoxyd-Hb. identisch ist.

Dies sei eine von zahlreichen Beobachtungen, die man bei der Beschäftigung mit dem Blutfarbstoff macht und, wenn auch nicht bis in die Einzelheiten erklärlich, ein Beweis für die Reaktionsmannigfaltigkeit des Blutfarbstoffs.

Mit diesen Hilfsmitteln wurden nun die Beziehungen des Oxy-Hb. zu Eisensalzen untersucht. Es sollten möglichst einfache Verbindungen angewandt werden. Im Barcroftapparat wurden verwendet 1 ccm Blut, 1,5 ccm Lösungsmittel und 0,2 ccm Reagens. Bei den spektroskopischen Untersuchungen verwandte ich 1 ccm Reagens auf 1 ccm Blut.

[1]) In der Benennung der verschiedenen Met-Hb. bin ich *Bürker* in seiner Monographie: „Hämoglobinbestimmung in Tigerstedts Handb. d. physiol. Methodik“ gefolgt.

4. Eisensulfat und Ferroammoniumsulfat.

Es wurden konzentrierte Lösungen hergestellt.

Brachte man zu Oxy-Hb.-Lösungen diese Reagenzien, so konnte man in den meisten Fällen in kurzer Zeit sehen, daß es zur Met-Hb.-Bildung kam.

Auch bei reduziertem Hb. trat Met-Hb.-Bildung auf. Besonders auffällig war der Unterschied zwischen beiden Salzen, wenn die Versuche in Küvetten gemacht wurden. Ließ man Blutflüssigkeiten und Reagenzien nach kurzer Durchmischung, wobei der violette Farbton sich nicht änderte, stehen, so sah man beim Ferrosulfat nach einigen Stunden eine von der der Außenluft zugänglichen Oberfläche her beginnende Met-Hb.-Bildung. Beim Ammoniumferrosulfat setzte die Met-Hb.-Bildung vom Boden her ein. Auch in 24 Stunden hatte sich in der Richtung des Vorgangs nichts geändert, nur daß die Met-Hb.-Zonen in den oberen und unteren Schichten breiter geworden sind. Die Reduktion war mit Natriumhydrosulfit ausgeführt.

Im Barcroftapparat ergab die Ferricyanidmethode einen Blutsauerstoffgehalt von 17,15 Proz. Bei Verwendung von Ferrosulfat an Stelle des Ferricyanids erfolgte eine Sauerstoffaufnahme aus dem Gasraum, die bei vollständiger Met-Hb.-Bildung 16,45 ccm auf 100 ccm Blut, bei teilweiser nur 4,9 ccm betrug. Bei den gasometrischen Untersuchungen erfolgte bei Ammoniumferrosulfat eine Abgabe von Sauerstoff an den Gasraum, die, obwohl keine vollständige Met-Hb.-Bildung eingetreten war, 25 Proz. des Gesamtsauerstoffs ausmachte. Da sich die verschiedenen Blutarten in der Schnelligkeit und Vollständigkeit diesem Salze gegenüber verschieden verhielten, so werden die Versuche fortgesetzt. Ferrosulfat und Wasser änderten im Barcroftapparat die Menisken nicht.

Betrachtet man die Vorgänge vom chemischen Standpunkt aus, so imponiert der Versuch mit Ferrosulfat als Reduktionsvorgang. Wollen wir ihn im Sinne *Heubners* als Oxydation deuten, so liegen vielleicht folgende Gleichungen zugrunde: $4\,R' + 2\,F'' + \frac{1}{2}\,O = R_2Fe^{-}O^{-}FeR_2$. Das dreiwertige Ferrisulfat oxydiert den Blutfarbstoff, der seinerseits die Oxydation des Ferrosalzes katalytisch beschleunigt. Eine katalytische Beschleunigung der Oxydation führt dann, da der frei werdende Sauerstoff aus dem Blute für die Bindung nicht ausreicht, zur Aufnahme aus dem Gasraum. Auch bei der Umwandlung des reduzierten Hb. ist Sauerstoff aus dem Gasraum nötig.

Bei dem Ammonferrosulfat müssen wir an eine gekuppelte Oxydation denken. Kompliziertere Vorgänge liegen wohl der Umwandlung des reduzierten Hb. durch Ammonferrosulfat zugrunde. Der Luftsauerstoff stört sogar den in der Tiefe sich abspielenden Vorgang. Zur Erklärung dient vielleicht die Beobachtung von *v. Binz* (nach mündlicher Mitteilung), daß sich Natriumhyposulfit auch als Oxydationsmittel bei ihm erwiesen hat. Es wäre deshalb möglich, daß das mit reduzierenden Fähigkeiten aus-

gestattete Ammonferrosulfat durch Natriumhydrosulfit oxydiert wurde. Jetzt erst konnte Met-Hb.-Bildung einsetzen.

Es wurde nun der Versuch gemacht, durch Oxydation des Ammonferrosulfats durch H_2O_2 von vornherein ein Ferrisalz zu gewinnen. Es wurden auf 5 ccm verdünnter Ferroammonsulfatlösung einige Tropfen Perhydrol gegeben, worauf eine starke Gasentwicklung einsetzte. Es war nach Zersetzung des H_2O_2 eine klare, hell- bis kastanienbraune Lösung geworden, die Oxy-Hb. sehr rasch in Met-Hb. umwandelte. Die gasanalytischen Untersuchungen ergaben Abgabe von Sauerstoff in den Gasraum. Dabei stellte sich heraus, daß auch CO_2 mit entbunden worden war. Nach ihrer Absorption hatten sich 15,2 ccm (reduziert) Sauerstoff aus 100 ccm Blut entwickelt. Mit einem verdünnteren Reagens waren 12,2 Proz. in Freiheit gesetzt worden. Nachdem im ersten Falle vollständige Met-Hb.-Bildung eingetreten, im zweiten Falle noch etwas Oxy-Hb. zurückgeblieben war, ist der Schluß gerechtfertigt, daß wir es tatsächlich mit Oxy-Hb.-Sauerstoff zu tun hatten. Da in 100 ccm Blut insgesamt 17,1 ccm O_2 gefunden waren, sind im ersten Falle 88 Proz., im zweiten 75 Proz. frei geworden. Hier wirkten also, im Sinne *Heubners*, die primär erzeugten dreiwertigen Ferrisalze bei der Met-Hb.-Bildung oxydierend.

Da weitere Versuche ergaben, daß die Schnelligkeit der Met-Hb.-Bildung auch von dem *Säuregrad* dieses Reagens abhing, so lag der Gedanke nahe, daß der Säurecharakter an der Met-Hb.-Bildung hauptsächlich beteiligt war, trotzdem ich hauptsächlich solche Lösungen verwandte, wo schon Zusatz einiger Tropfen n KOH zu 5 ccm Reagens Ausfällung eines dicken, braunen Niederschlags hervorrief und die keine Ausfällung des Bluteiweißes bewirkten. Deswegen zog ich auch die Säuren, die bei der Bestimmung der Blut-CO_2 üblich sind, Citronensäure und Weinsäure, in diese gasometrischen Untersuchungen ein.

Man kann ja im Barcroft die CO_2 nicht direkt bestimmen mit einer stärkeren organischen Säure, z. B. 20proz. Weinsäure. Bei der Bildung des Acid-Met-Hb. wird auch O_2 frei. Man muß deswegen den Sauerstoff zuerst frei machen. Nun wird aber, wie bereits erwähnt, schon bei der Hämolyse CO_2 frei gemacht. Es hat die CO_2-Bestimmung mit dem Bracroft, wie sich nach diesen Vorgängen jetzt verstehen läßt, immer als nicht sicher gegolten. Seitdem *K. Hasselbalch*[1]) nachgewiesen hatte, daß die Berechnung der Wasserstoffzahl des Blutes aus den Mengen der freien und gebundenen CO_2 desselben ein direkterer und deshalb vorzuziehender Weg zur Feststellung der Blutreaktion ist als die von *Barcroft* und seinen Schülern benutzte Sauerstoffbindungsmethode in Verbindung mit der *Hill*schen Formel, war eine rasche, sichere CO_2-Bestimmungsmethode des Blutes von großem Vorteil.

---

[1]) *K. Hasselbalch*, diese Zeitschr. 82, 1917.

A. Krogh und *G. Liljestrand*[1]) haben ein sogenanntes Säuregemisch zusammengestellt, das die CO_2 austreibt, ohne den Blutfarbstoff zu ändern. Die Methode besteht in der Unterschichtung des Blutes unter eine Lösung, die aus zwei nicht mischbaren Schichten besteht, a) einer Säurelösung Citrat und HCl, die zuerst in das Birnchen gebracht wird, und b) einer Pufferlösung, bestehend aus einer 15proz. Glycerinlösung. Macht man CO_2-Bestimmungen mit diesen Lösungen, so tritt — im Gegensatz zur reinen Wein- oder Citronensäure — keine Hämolyse, aber auch kein Braunwerden auf. Erst nach Verlauf mehrerer Stunden sah ich in solchen Blutgemischen schwache, aber deutliche Met-Hb.-Bildung[2]). Also jede andere Säure, die diese schnelle Met-Hb.-Bildung mit oder ohne Hämolyse vermeidet, ist geeignet zur direkten Bestimmung der CO_2 im Blut. Am Schluß dieser Säureversuche hatte ich in der Bernsteinsäure eine solche gefunden. Doch hierauf soll erst nach Erledigung der Versuche mit Citronensäure und Weinsäure eingegangen werden.

5. Versuche mit Schwefelsäure, Weinsäure und Citronensäure.

Zu den ersten Versuchen verwendete ich dreimal mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschene Schweineblutkörperchen. Aus der Blutkörperchensuspension entwickelten sich mit Ferricyanid 10,2 ccm O_2 auf 100 ccm Blut, mit 20proz. Citronensäure 5 ccm, mit konzentrierter Weinsäure 5 ccm, mit 10 Proz. Schwefelsäure 4,2 ccm O_2; mit anderer Schweineblutkörperchensuspension: mit Ferricyanid 13,3 ccm O_2, mit 20proz. Weinsäure 6,2 ccm, 6,7 ccm und 6,6 ccm.

Aus diesen Versuchen läßt sich ersehen, daß ungefähr die Hälfte des Gesamtsauerstoffs in gasförmiger Form gefunden wurde. Besonders angenehm war, daß durch die Weinsäure keine Fällung des Eiweißes hervorgerufen wurde. Eine starke Fällung tritt bekanntlich bei der CO_2-Bestimmung nach der Austreibung des O_2, wie sie nach *Barcroft* vorgeschrieben ist, auf.

Ein Versuch vom 21. November soll beweisen, wieweit meine Absorptionsvorrichtung für CO_2 funktionierte.

Die Sauerstoffbestimmung erfolgte mit Ferricyanid und Ammoniaklösung 5 : 1000, dann wurde mit Weinsäure (20proz.) die CO_2 ausgetrieben.

Nach dem Zufließen des Ferricyanids war mit der angewandten Ammoniaklösung kein deutliches alkalisches Met-Hb.-Spektrum zu erkennen.

Jeder Apparat ergab je 15 ccm O_2 (reduziert) auf 100 ccm Schweineblut.

In dem nicht zur Absorption adjustierten Apparat wurden 50 ccm CO_2 (reduziert) berechnet auf 100 ccm Blut frei gemacht.

In den adjustierten Birnchen waren die Menisken nach 15 Minuten, als sie nicht mehr weiter zurückgingen, nicht ganz auf die Ausgangsmarken zurückgekehrt. Es machte den Eindruck, als wäre noch etwas Sauerstoff mit herausgetrieben worden, und zwar 1,1 ccm O_2 auf 100 ccm Blut.

---

[1]) *A. Krogh* und *G. Liljestrand*, diese Zeitschr. **104**, 1920.

[2]) Noch schneller erfolgt die Met-Hb.-Bildung und auch die Hämolyse ohne die Pufferlösung. Die Pufferlösung verhindert also vor allem die Hämolyse; dagegen fällt der Blutfarbstoff aus.

Da ich in den später zu schildernden Versuchen mit Bernsteinsäure bei ähnlichen Absorptionsversuchen der CO_2 vollständigen Ausgleich bekam, so möchte ich hier den Teil des durch die Ammoniakzugabe zu wenig gefundenen Sauerstoffs erblicken (vgl. *Masuda*). Zu dem gleichen Blut wurde 20proz. Weinsäure direkt gegeben. Nach Absorption der CO_2 waren 7,8 ccm O_2 frei geworden, also wieder beinahe die Hälfte.

Es findet sich also nur die Hälfte Sauerstoff gasförmig, die andere Hälfte ist wohl zur Oxydation dieser leicht oxydierbaren organischen Säuren herangezogen worden. Diese α-Oxysäuren haben die Ferrostufe des Hämoglobins in die Ferristufe übergeführt und sind teilweise selbst oxydiert worden. (Vgl. in der Literaturzusammenstellung *W. Küsters* Anschauungen.)

6. *Versuche mit Bernsteinsäure.*

Um die Frage zu entscheiden, ob die Carboxylgruppe oder die Hydroxylgruppen dieser beiden Oxysäuren mit der Met-Hb.-Bildung in Verbindung stehen, oder anders ausgedrückt: ob die niedrigst oxydierte Substanz dieser Gruppe auf den Farbstoff schwächer einwirke als diejenigen, die selbst leicht oxydierbar sind, wurden die Versuche mit Bernsteinsäure angestellt. Sie besitzt, im Gegensatz zur Citronensäure und zur Weinsäure, der Dioxybernsteinsäure, keine OH-Gruppe, ist eine schwache Säure und gegen *Oxydationsmittel sehr beständig.*

Versuch: Zu 1 ccm Schweineblut und 3,8 ccm destillierten Wassers werden nach Vermischen und Temperaturausgleich 0,2 ccm konzentrierte Bernsteinsäurelösung zugegeben. Blut ist vollständig lackig geworden. Die Zugabe der Säure bewirkt keine Met-Hb.-Bildung. An Kohlensäure wurden ausgetrieben *31 ccm* auf 100 ccm Blut. Ebensoviel wurde entwickelt nach Verwendung der 15proz. Glycerinpufferlösung, die eine Hämolyse verhinderte.

Die CO_2-Bestimmungen mit dem *Krogh*schen Säuregemisch und der Pufferlösung ergab die gleichen Werte. Es wurden *30,6 ccm* CO_2 entbunden.

Ließ man durch Bernsteinsäure CO_2 in den mit Absorptionsvorrichtung versehenen Birnchen entwickeln, so kehrten — genau wie bei Verwendung des *Krogh*schen Austreibungsmittels — die Menisken auf ihre Ausgangsstände zurück. Eine schwache Met-Hb.-Bildung aus hämolysiertem und nicht hämolysiertem Blute tritt erst nach vielen Stunden auf. (Auch nach *Krogh* kommt es trotz des Puffergemisches, das eine Hämolyse hindert, nach mehreren Stunden zu einer gleichen schwachen Met-Hb.-Bildung.)

Obgleich also die Bernsteinsäure nur schwer oxydierbar ist, so bewirkt das Oxy-Hb. doch eine geringe Oxydation, die ihrerseits zu einer geringen Met-Hb. führt. Die Angriffsstellen des Oxy-Hb. an den Oxysäuren müssen also durch die OH-Gruppe bedingt sein.

Auf die höher oxydierte Säure wirkt der Blutfarbstoff und ebenso vice versa die gleiche Säure auf den Blutfarbstoff stärker ein.

Ohne Zweifel läßt sich die *Bernsteinsäure* auf Grund ihrer Eigenschaften dem Blutfarbstoff gegenüber *sehr gut für die direkte* CO_2-*Bestimmung verwenden.*

Zusammenfassung.

Durch gasometrische und spektroskopische Untersuchungen über das Verhalten von Eisensalzen und organischen Säuren Hämoglobin gegenüber wird gezeigt, daß dem Chemismus der Met-Hb.-Bildung die Überführung der Ferrobindung des Farbstoffes in die Ferribindung zugrunde liegt und der Vorgang mit dem Freiwerden von Sauerstoff verknüpft ist, entsprechend den Auffassungen *Küsters*, *Heubners* u. a.

Bei meinen Untersuchungen hat sich die Bernsteinsäure als das gegebene Austreibungsmittel für die direkte CO_2-Bestimmung im Blute erwiesen.

Die Energiequelle bei der Muskelarbeit[1]).

Von

Graham Lusk.

(Aus dem physiologischen Laboratorium der Cornell-Universität New York City.)

(Eingegangen am 8. Januar 1925.)

Übertragen von *F. F. Nord* (Berlin).

Die gegenwärtigen Autoritäten, die sich auf dem Gebiete der Muskelkontraktion betätigten, sind zu dem Schluß gekommen, daß der ganze Prozeß von den Umwandlungen und Oxydationen der Kohlehydrate abhängig ist. Da Tiere und Menschen — sowohl im Hungerzustand als auch auf Fettkost gesetzt — fähig sind, Muskelarbeit zu leisten, schließen diese Forscher, daß Kohlehydrate aus Fetten entstehen können. Dem Zirkularschreiben des Nobelkomités zufolge wurde der Nobelpreis *Meyerhof* auf Grund „seiner Entdeckung des Verhältnisses zwischen Sauerstoffverbrauch und Umwandlung von Milchsäure im Muskel" verliehen.

Hill[2]) hebt in einer neueren Abhandlung besonders hervor, daß der ganze „oxydative Cyklus der Muskelerholung auf Kosten der Kohlehydrate geschieht", und *Meyerhof*[3]), der sich auf die durch oxydative Erholung im Muskel hervorgerufene Erschlaffungswärme bezieht, behauptet, daß „die letztere jedoch im wesentlichen nur im Sauerstoff erscheint, und *Hill* bringt sie richtig mit dem oxydativen Verschwinden der Milchsäure in Verbindung". „Die Werke dieser Autoren in Betracht ziehend schreibt *Oppenheimer*[4]): „Jedenfalls wissen wir, daß die Muskelkontraktion ausschließlich mit Kohlehydraten arbeitet."

---

[1]) Vorgetragen auf der gemeinsamen Tagung der vereinigten amerikanischen Gesellschaften für experimentelle Biologie und der Sektion N der amerikanischen Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften am 29. Dezember 1924 zu Washington.

[2]) *A. V. Hill*, Science **60**, 505, 1924.

[3]) *O. Meyerhof*, The Chemical Dynamics of Life Phaenomena, Philadelphia und London, S. 66. J. B. Lippincott Company, 1924.

[4]) *C. Oppenheimer*, Die Fermente und ihre Wirkungen, S. 458. Leipzig, Georg Thieme, 1924.

Es soll daran erinnert werden, daß *Hill* mit einer wunderbaren Exaktheit gezeigt hat, daß „der einleitende Prozeß bei der Kontraktion ein vollkommen nicht-oxydativer ist, und in der Bildung von Milchsäure aus Glykogen besteht“. Hierüber herrscht kein Zweifel. Fraglich ist lediglich, ob während des Erholungsvorgangs Milchsäure oxydiert wird oder ob auch Fett Verwendung findet. Heutzutage ist allgemein in Europa die Meinung — man könnte fast sagen der Irrtum — verbreitet, daß Fette in Kohlehydrate umgewandelt werden können. Ferner besteht die Ansicht, daß die Entstehung des Diabetes durch eine Überproduktion von Zucker aus Fett bedingt ist. Der hauptsächlichste Ursprung dieses Gedankens rührt von der *v. Noorden*schen Polyglandulartheorie des Diabetes her. Im Jahre 1908 kam *Falta* nach Amerika und verbreitete die Lehre, daß eine Überproduktion von Adrenalin durch die Nebenniere zur Folge habe, daß die Leber Glykose aus Fett erzeugt. Es war nun für *A. I. Ringer*[1]) leicht, ihm zu zeigen, daß Adrenalin bei einem hungernden Hunde im Zustande des vollständigen Phlorrhizindiabetes zuerst ein Ansteigen der Glykoseausscheidung hervorruft, daß aber weitere Mengen von Adrenalin keine weitere Spur von „Extrazucker“ im Harne erscheinen lassen. Demzufolge ruft Adrenalin keine Entstehung von Zucker aus Fett hervor. Diese Tatsache wurde von *Sansum* und *Woodyatt*[2]) bestätigt.

Ritzmann[3]) hat gezeigt, daß Adrenalinglykosurie nur dann beobachtet werden kann, wenn die verabreichte Menge eine Gefäßkontraktion verursacht, die ihrerseits lokale Anämie, Milchsäureproduktion und Glykogenausscheidung aus der Leber zur Folge hat. Keinesfalls können derartige Versuche im Sinne einer Zuckerbildung aus Fett gedeutet werden.

Bereits im Jahre 1898 konnte gezeigt werden[4]), daß Krämpfe eine Ausscheidung von Extrazucker bei hungernden Phlorrhizinkaninchen hervorrufen. Diese Extraausscheidung wurde sogar damals der Umwandlung des Restes von Glykogen in Glykose zugeschrieben.

Fernerhin steigern sowohl das durch Kälte bewirkte Zittern, wie auch mechanische Arbeit, z. B. Rennen[5]), in hohem Maße den Fettstoffwechsel beim hungernden Phlorrhizinhund und rufen in der Vorperiode eine Ausscheidung von Extrazucker im Harn hervor. Aber bei Wiederholung der Kälteeinwirkung und des Einflusses der Arbeit kann kein Extrazucker im Harne gefunden werden trotz des stark gestiegenen Fettumsatzes. Diese Befunde konnten kürzlich in nicht veröffent-

---

[1]) *A. I. Ringer*, Journ. f. exper. Med. **12**, 105, 1910.
[2]) *W. D. Sansum* und *R. T. Woodyatt*, Journ. f. biol. Chem. **21**, 1, 1915.
[3]) *H. Ritzmann*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **61**, 231, 1909.
[4]) *G. Lusk*, Zeitschr. f. Biol. **36**, 82, 1898.
[5]) *Derselbe*, Amer. Journ. f. Physiol. **22**, 163, 1908.

lichten Versuchen von *Wierzuhowski* und *Ling* bestätigt werden. Wenn während der Muskelbewegung Milchsäure aus Fett erzeugt wäre und in die Blutbahn gelangte, würde sie in Glykose verwandelt und ausgeschieden werden. Offenbar sprechen alle erwähnten Fälle gegen eine Entstehung von Zucker aus Fett.

Parnas und *Wagner*[1]) haben neuerdings richtig ausgesprochen, daß man zwischen der erwiesenen Erzeugung von Fett aus Kohlehydraten und der ungeprüften Hypothese der Gewinnung von Zucker aus Fett scharf unterscheiden müsse. Sie stellen fest, daß die getrennte Verabreichung von Fleisch, Pepton, Gelatine, Alanin, Glutaminsäure, Glycerin oder Milchsäure den Blutzuckerspiegel erhöht, während allein verabfolgtes Fett gar keinen Einfluß auf die Blutzuckermenge hat.

Die umkehrbare Reaktion, Milchsäure, Glykose, Glykogen, wurde zuerst im Jahre 1906 dargelegt und im Jahre 1913 sprach sich darüber *Hofmeister*[2]) folgendermaßen aus: „Ich habe bei dieser Betrachtung mit Absicht einen der angeführten Glykogenbildner außer acht gelassen, weil er eine eingehendere Besprechung erfordert, nämlich die *Milchsäure*. Bekanntlich ist dieses ein außerordentlich verbreitetes Stoffwechselprodukt. Ihre Entstehung aus dem Zucker einerseits, ihre Fähigkeit, im Phlorrhizinversuch und am pankreasdiabetischen Tiere die Glykosurie zu steigern, haben *Mandel* und *Lusk*[3]) bewogen, sie direkt mit dem Glykogenstoffwechsel in Beziehung zu bringen. Sie haben diese Beziehung in voller Schärfe durch folgende Formulierung ausgedrückt:
d-Milchsäure → Glykose → Glykogen → Glykose → d-Milchsäure."

Hill[4]) hat die bei der Kontraktion in Wasserstoffatmosphäre im Froschmuskel frei werdende Wärme gemessen und bestimmte die gleichzeitig erzeugte Menge der Milchsäure. Die pro Gramm gebildeter Milchsäure frei werdende Wärme wurde verschieden angegeben, wobei die Bestimmungen mit wachsender Genauigkeit ausgeführt wurden. Es wurde beobachtet, daß der anaërobe, momentan vor sich gehende Übergang von Glykogen in Milchsäure, der die Ursache der Muskelkontraktion ist und vielleicht in der *R*-Zacke des Elektrocardiogramms zum Ausdruck kommt, eine größere Menge Milchsäure entstehen läßt, als später in der Erholungsphase oxydiert werden kann. *Meyerhof* zeigte, daß sich die Milchsäure auf Kosten des Glykogens vermehrt, und daß bei ihrem Verschwinden jedesmal eine entsprechende Menge von Glykogen in Erscheinung tritt. Zuletzt schloß er[5]), daß von 4,6 g

[1]) *J. K. Parnas* und *R. Wagner*, diese Zeitschr. **127**, 55, 1922.
[2]) *F. Hofmeister*, Sammlung Nothnagelstiftung **1913**, Nr. **1**, S. 1.
[3]) *A. R. Mandel* und *G. Lusk*, Amer. Journ. of Physiol. **16**, **129**, 1906.
[4]) *A. V. Hill*, Journ. of Physiol. **44**, **466**, **1912**.
[5]) *O. Meyerhof* und *R. Meier*, Arch. f. d. ges. Physiol. **204**, **448**, 1924.

produzierter Milchsäure nur 1 g oxydiert, die restlichen 3,6 g hingegen in das Ausgangsglykogen zurückverwandelt werden.

Die bei der Spaltung von Glykogen in Milchsäure entstandene Wärme findet daher ihr Gegenstück in derjenigen, die bei der Oxydation von einem Fünftel der Milchsäure entsteht. Die Oxydationswärme wird in hohem Maße während der Rückwandlung des größeren Teiles der Milchsäure in Glykogen absorbiert[1]). Der respiratorische Quotient des Prozesses beträgt 1 und weist auf die Oxydation von Milchsäure hin[2]).

Die Theorie der Milchsäureverbrennung als Quelle der Muskelenergie erschien dermaßen so vollständig, daß es kaum überraschen kann, wenn *Meyerhof* während seines Aufenthalts in Amerika vor 1½ Jahren alle Angriffe gegen sie nachdrücklich zurückwies, obgleich er darauf aufmerksam gemacht wurde, daß Fett an Stelle von Kohlehydraten manchmal in der Erholungsphase Verwendung finden kann. Denjenigen von uns, die gewohnt sind, die Wärmeerzeugung im tierischen Organismus als Ergebnis einer Verbrennung eines Gemenges von Kohlehydraten und Fetten zu betrachten, erschien es schwer glaublich, daß Muskelbewegung, die den Stoffwechsel bis zum Zehnfachen steigern kann, ausschließlich eine Funktion des Kohlehydratstoffwechsels bzw. der Oxydation der Milchsäure sein sollte.

Bezüglich der Froschmuskelkontraktion erklärt *Hill*[3]): „Die im Muskel vorhandene Gesamtmenge von Glykogen ist ausreichend, um für die ganze Energie verantwortlich zu sein, die bei den ausgedehntesten Reihen von Kontraktionen, welche der Muskel sogar unter den günstigsten Bedingungen im Sauerstoff auszuführen fähig ist, aufgewandt wird." Angesichts der Tatsache, daß verfügbare Kohlehydrate immer leichter zu oxydieren sind als Fette, ist es ebensowenig überraschend, daß nach *Meyerhof*[4]) der respiratorische Quotient des isolierten, gereizten Froschmuskels 1 beträgt, wie, daß der Fettgehalt des Muskels unverändert bleibt[5]).

Viel Aufsehen erregten die Versuche von *Krogh* und *Lindhard*[6]), die 1920 zeigten, daß die zur Ausführung einer gewissen Arbeit er-

---

[1]) Ein Teil der geringen Steigerung im Stoffwechsel des Hundes nach der Aufnahme von 4,8 bis 8 g Milchsäure (*Lusk*, Journ. of biol. Chem. **49**, 453, 1921) ist wahrscheinlich dem Freiwerden der Neutralisationswärme der Milchsäure und der Extrawärmebildung durch den Körper zum Vorteil der endothermen Umwandlung von Milchsäure in Glykogen zuzuschreiben.

[2]) *O. Meyerhof*, Arch. f. d. ges. Physiol. **175**, 82, 1919.

[3]) *A. V. Hill*, Science **60**, 505, 1924.

[4]) *O. Meyerhof*, Arch. f. d. ges. Physiol. **175**, 20, 1919.

[5]) *G. Winfield*, Journ. of Physiol. **49**, 171, 1914/15.

[6]) *A. Krogh* und *J. Lindhard*, unter Mitarbeit von *G. Liljestrand* und *K. G. Andresen*, Biochem. Journ. **14**, 290, 1920.

forderliche Energie beim Menschen, „in drei besten Versuchsserien“, bei Kohlehydratoxydation um 11 Proz. geringer war als bei Fettverbrennung. Diese Diskrepanz könnte auf den Wärmeverlust bei der Umwandlung von Fetten in Kohlehydrate zurückgeführt werden. *Krogh* und *Lindhard* waren bei der Darlegung dieser Theorie sehr vorsichtig. Bei Besprechung des Futters in Verbindung mit dem mechanischen Effekt im Muskel wurde die 1917 vollendete Arbeit von *Anderson* und *Lusk*[1]) von den meisten Autoren vollkommen übersehen. Diese Forscher hoben in ihrer Abhandlung besonders hervor: „Aus dieser Tatsache kann man schließen, daß die Vorwärtsbewegung des Eigengewichts des Hundes bei überschüssigem Kohlehydratfutter sogar durch einen geringeren Energieverbrauch hervorgerufen wird als im nüchternen Zustand.“ Diese Schlüsse wurden aus Versuchen an einem Hunde gewonnen, der sich mehrere Stunden hindurch mit einer Stundengeschwindigkeit von fünf Kilometern in einer Tretmühle bewegte, die sich in einem Respirationskalorimeter befand. Um 1 kg Hundekörpergewicht 1 m fortzubewegen, sind — ausgedrückt in Kilogrammetereinheiten von Energie — erforderlich:

18 Stunden nach erfolgter Nahrungsaufnahme .	0,580
nach Aufnahme von 100 g Glykose	0,550

Die 5 Proz. Abnahme an geleisteter Arbeit wäre nicht in Erscheinung getreten, wenn das Körpergewicht des Hundes nicht durch Zufuhr von 100 g Glykose — gelöst in 250 ccm Wasser — gestiegen wäre. Die Berechnungsweise erscheint aber vollständig zulässig.

Die erforderlich gewesene Energie desselben Hundes wurde am 8. und 13. Tage der Hungerperiode ebenfalls zu einem Zeitpunkt bestimmt, zu dem — außer seinem eigenen Körperfett — nur ein geringer Vorrat zur Ergänzung der notwendigen Energie vorhanden war. Folgende Werte wurden erhalten:

	Arbeit in kg/m zur Bewegung von 1 kg um 1 m
Am 8. Hungertage	0,587
Am 13. Hungertage	0,595

Tabelle I gibt die Ergebnisse in größerer Ausführlichkeit.

Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, daß die Energieeinheit beim arbeitenden (laufenden) Hunde (18 Stunden nach erfolgter Aufnahme der gemischten Standardkost) 0,580 beträgt. Dieselbe Einheit für die gleiche Arbeitsleistung beträgt am 13. Hungertage 0,595, die Steigerung ist omsit 2,6 Proz. Der Unterschied liegt also innerhalb der Fehlergrenze der Methode. Am 13. Tage der Hungerperiode weist der respiratorische

[1]) *R. J. Anderson* und *G. Lusk*, Journ. of biol. Chem. **32**, 421, 1917.

Tabelle I.

Die Wirkung von Kohlehydraten im Vergleich zu Fett im Energiehaushalt eines arbeitenden Hundes.
Gewicht etwa 9 kg.
Grundumsatz bei reicher Ernährung 17,2 Cal; im Hungerzustande 14,3 und 12,4 Cal. (*Anderson* und *Lusk*).

Laufende Nr.	Art des Versuchs	Nicht-Eiweiß Respirationsquotient	Arbeit, ausgedrückt in Entfernung pro Stunde m	Eiweiß Cal	Fett Cal	Kohlehydrate Cal	Zusammen Cal	Arbeit: über den Grundstoffwechsel hinaus Cal	Arbeit: in kg/m zur Bewegung von 1 kg um 1 m
13	Arbeit, nüchtern ***)	0,79	4806	2,7 **8,6** *)	51,3 **67,5**	22,0 **29,0**	76,0	58,8	0,578
24	„ „	0,74	4717	2,5 **8,0**	65,8 **86,0**	8,4 **11,0**	76,7	59,5	0,582
26	„ nach 100 g Glykose .	0,96	4737	2,5 **8,0**	10,1 **18,0**	64,2 **84,0**	76,8	59,6	0,550
32	Ruhezustand. 8. Hungertag . .	0,695	—	2,2 **15,0**	12,1 **85,0**	0	14,3	—	—
32	Arbeit, 8. Hungertag	0,717	5023	2,2 **8,0**	68,9 **96,0**	0,7 **) **1,0**	71,8	57,5	0,587
34	„ 13. Hungertag	0,713	4710	2,2 **8,4**	61,7 **96,6**	0	63,9	51,5	0,595

*) Stoffwechselprozente fette Ziffern.
**) Für Hundefett angenommener respiratorischer Quotient = 0,713.
***) Am Tage zuvor abends um 5 Uhr gemischte Nahrung.

Quotient für Nichteiweiß von 0,713 auf ausschließliche Oxydation eines Materials hin, dessen respiratorischer Quotient mit dem von *Zuntz* für menschliches Fett angegebenen übereinstimmt. Die Gewinnung selbst der geringsten Menge nicht oxydierter Milchsäure aus Fett hätte den respiratorischen Quotienten sofort gesenkt. *Pembrey*[1]) hat berechnet, daß der respiratorische Quotient bei der Umwandlung von Olein in Zucker 0,281 betragen würde. Der Stoffwechsel dieses Hundes am 13. Hungertage stieg unter dem Arbeitseinfluß von 12,4 Cal pro Stunde auf 62,9 Cal. Es hat sich also ein Zuwachs von 415 Proz. als Äquivalent der ausgeführten mechanischen Arbeit dem Grundumsatz angeschlossen, und dies geschah durchaus auf Kosten des Fettverbrauchs. Es wurde im Wesentlichen die gleiche Arbeit mit demselben Energieaufwand geleistet, als ob am Tage zuvor eine gemischte Nahrung verabreicht worden und Kohlehydrate an der Reaktion beteiligt gewesen wären.

Es soll nicht unerwähnt bleiben, daß *Meyerhof* und *Himwich*[2]) kürzlich mitgeteilt haben, daß der respiratorische Quotient von arbeitenden Ratten nach erfolgter Verabreichung von Fettkost 0,71 betragen solle. Sie zitieren die Arbeit von *Anderson* und *Lusk* ohne Hinweis auf ihre Bedeutung.

Im Lichte dieser Versuche erscheint es schwer, die Erklärung zu akzeptieren, daß Fett in Milchsäure verwandelt werden müsse, um Energie für die oxydative Regeneration im Muskel zu liefern. Ebensogut könnte man behaupten, daß Fett allein die Energie für die Regenerationsphase zu liefern vermag. Mit Hilfe der β-Oxydation könnte man sich „Mikroexplosionen“ von Essigsäure vorstellen, die diese Energie zu liefern imstande sind. Das Glyzerin des Fettes enthält weniger als 4 Proz. der Energie des Fettmoleküls und kann nicht die Quelle all dieser Muskelenergie sein.

Es scheint, daß die beständige Zurückhaltung des Restglykogens durch Körpergewebe selbst nach langer Hungerperiode und dessen Wiederaufbau aus Eiweißstoffen im hungernden Organismus nach Strychninkrämpfen[3]) auf die Wahrscheinlichkeit hindeuten, daß der Körper Glykogenbestandteile für die Glykogen → Milchsäure-reaktion und für die anaërobe Anfangsphase der Kontraktion zurückhält, wohingegen während der Erholungsphase entweder Fett oder Kohlehydrate, oder auch beide zusammen diejenige Energie frei zu machen vermögen, die für die Zurückbildung des Glykogens aus Milchsäure

[1]) *M. S. Pembrey*, Journ. of Physiol. **27**, 71, 1901/02.
[2]) *O. Meyerhof* und *H. E. Himwich*, Arch. f. d. ges. Physiol. **205**, 415, 1924.
[3]) *N. Zuntz*, Arch. f. d. Physiol. 1893, S. 378.

erforderlich ist. Dieser Gedanke lehnt sich an die von *Woodyatt*[1]) im Kapitel über Diabetes entwickelte Theorie an, daß Milchsäure im Körper nicht oxydiert werden kann.

Übereinstimmend mit dieser Auffassung habe ich folgende Gedanken im Jahre 1916 in Philadelphia im College of Physicians vorgetragen:

„*Dakin*, *Neuberg* and others have produced evidence which indicates that methyl glyoxal is an important intermediary product in sugar metabolism. Methyl glyoxal is a substance which in asphyxial conditions is readily converted into lactic acid. Biologists find that lactic acid is not oxidized. On the other hand, methyl glyoxal in the presence of oxygen readily undergoes decomposition. *Neuberg* has shown that the yeast cell may produce acetaldehyde from it, and that this may then be reduced to alcohol. In the presence of oxygen, however, acetaldehyde may be converted into acetic acid, which can readily be oxidized in the body into carbon dioxide and water.

The provisions in this scheme of glucose metabolism are such that if asphyxial conditions are encountered, lactic acid is produced (which may be reconstructed into glucose). Under asphyxial conditions acetaldehyde does not arise in the tissues, for if it did arise in the presence of asphyxia, alcohol would then be a product of metabolism. The prior formation of lactic acid, therefore, automatically prevents the organism-from becoming a brewery."

Diese Beziehungen kommen in folgenden Formeln zum Ausdruck:

$$
\begin{array}{cccccc}
CHO & & CHO & HO & HCOOH & HCOOH \\
| & & | & & \text{Ameisensäure} & | \\
H{-}C{-}OH & OH & C{-}OH & & CHO + O_2 & CH_3 \\
| & | & \| & & | & \text{Essigsäure} \\
HO{-}C{-}H & H & CH_2 & H & CH_3 + H_2 & CH_2OH \\
| & \longrightarrow & & \longrightarrow & \text{Acetaldehyd} & | \\
H{-}C{-}OH & & CHO & O & COOH & CH_3 \\
| & & | & & | & \text{Alkohol} \\
H{-}C{-}OH & OH & C{-}OH & H \longrightarrow & CHOH & \\
| & | & \| & & | & \\
CH_2OH & H & CH_2 & H & CH_3 & \\
 & & \text{Methylglyoxal} & & \text{Milchsäure} &
\end{array}
$$

Ist dieser Gedanke richtig, dann liefert die anaërobe Spaltung des Glykogens in Milchsäure die „Initialwärme" bei der Muskelkontraktion, während durch die Oxydation des Methylglyoxals die „Erschlaffungswärme" der Regenerationsphase auftritt. Aber bei Fehlen ausreichender Kohlehydratumwandlungsprodukte wird an deren Stelle Fett oxydiert bzw. im Hungerzustand ausschließlich verwendet.

---

[1]) *Woodyatt* in Wells's Chem. Pathol. Philadelphia und London, 2. Aufl. W. B Saunders Comp., 1914.

Es soll bemerkt werden, daß die ganze von *Woodyatt*[1]) und *Shaffer*[2]) so fein ausgearbeitete Theorie des ketogenen-antiketogenen Gleichgewichts nicht das Papier wert wäre, das man damit beschrieben hat, wenn die Möglichkeit einer Umwandlung von Fettsäuren in Milchsäure besteht.

Es wird mir wohl gestattet sein, darauf aufmerksam zu machen, daß es unsicher ist, Schlüsse aus Versuchen am isolierten Gewebe zu ziehen, ohne über eine fundamentale Kenntnis der hauptsächlichsten Grundsätze des Energiestoffwechsels zu verfügen.

---

[1]) *R. T. Woodyatt*, Arch. f. intern. Med. 28, 125, 1921.

[2]) *P. A. Shaffer*, Journ. of biol. Chem. 54, 399, 1922.

Über die Einwirkung von Fluorionen auf die Arbeitsfähigkeit und den Lactacidogenwechsel des Froschmuskels.

Von

Gustav Embden und Herbert Hentschel.

(Aus dem Institut für vegetative Physiologie der Universität Frankfurt).

(Eingegangen am 14. Februar 1925).

In einer schon längere Zeit zurückliegenden Arbeit zeigte *Carl Schwarz*[1]), daß die Wiederherstellung der Leistungsfähigkeit rohrzuckergelähmter Muskeln durch Zusatz geringer Mengen von Natriumsalzen zur Rohrzuckerlösung bewirkt werden kann. Das Restitutionsvermögen der einzelnen Salze ist ein sehr verschiedenes, derart, daß die am quellungsbegünstigenden Ende der lyotropen Reihe stehenden Anionen (Rhodan und Jod) — zunächst wenigstens — den größten Grad von Leistungsfähigkeit hervorrufen, während die am quellungshemmenden Ende stehenden Ionen (Tartrat und namentlich Citrat) den rohrzuckergelähmten Muskel nur in geringem Maße und ganz vorübergehend wieder arbeitsfähig machen. Eine Erklärung für das eben geschilderte Verhalten konnte in Untersuchungen aus dem hiesigen Institut gewonnen werden[2]), in denen gezeigt wurde, daß dem verschiedenen Restitutionsvermögen einzelner Ionen ihre verschiedene Einwirkung auf den Lactacidogenwechsel im Froschmuskel entspricht, derart, daß die am stärksten restituierenden Natriumsalze den Lactacidogenwechsel am stärksten im Sinne der Spaltung beeinflussen, während die weniger vollkommen restituierenden Ionen nur eine geringe Lactacidogenspaltung zulassen oder Spaltungshemmung bewirken und die am Citratende stehenden Ionen der lyotropen Reihe ganz entsprechend ihrem Unvermögen, eine irgend länger andauernde Rückkehr der

---

[1]) *Carl Schwarz*, Pflügers Arch. **117**, 161. 1907.

[2]) *Embden*, Vorträge auf dem XI. internationalen Physiologenkongreß in Edinburg 1923, und auf der Tagung der Deutschen Physiologischen Gesellschaft, Tübingen 1923; Naturwissenschaften 1923, S. 985; *Embden* und *Lange*, Klin. Wochenschr. 1924, S. 129; *Embden* und *Lehnartz*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **134**, 243, 1924.

Leistungsfähigkeit des rohrzuckergelähmten Muskels hervorzurufen, die Richtung des Lactacidogenwechsels umzukehren, d. h. die Lactacidogenspaltung in Lactacidogensynthese umzuwandeln vermögen. Diese verschiedenartige Einwirkung verschiedener Ionen [auch Kationen wurden in den Bereich der Untersuchungen einbezogen[1])] auf den Lactacidogenwechsel wurde am Muskelbrei, aber auch am Muskelpreßsaft und an ganzen Muskeln, die in verschiedene Salzlösungen eingetaucht wurden, gewonnen.

Der ebenfalls vor kurzem in einer Arbeit aus dem hiesigen Institut geführte Nachweis, daß Chlorionen während der Muskeltätigkeit aus der interfibrillären Flüssigkeit in den Muskel eindringen[2]), wurde mit den oben geschilderten Befunden in Zusammenhang gebracht; es wurde nämlich angenommen, daß dieses Eindringen durch eine bei der Erregung eintretende Permeabilitätssteigerung ermöglicht wird. Die eindringenden Chlorionen sollen nach der von uns geäußerten Vorstellung Lactacidogenspaltung und die bei dieser Spaltung auftretenden Säuren, in erster Linie die Phosphorsäure, die zur Kontraktion führenden Kolloidprozesse auslösen.

Schon in früheren, von *Embden, Schmitz* und *Meincke*[3]), sowie von *F. Cohn* ausgeführten Untersuchungen war der Nachweis erbracht worden, daß die weiße Muskulatur des Kaninchens und auch die Hundemuskulatur nach bis zu starker Ermüdung fortgesetzten Arbeit einen Mehrgehalt an anorganischer Phosphorsäure unter entsprechender Verminderung des Lactacidogens aufweist, und *Embden* und *Lawaczeck*[4]) konnten dartun, daß es im isolierten Froschmuskel in einem Zeitpunkt, der dem Kontraktionsmoment zum mindesten sehr nahe liegt, zu einer starken Abspaltung von anorganischer Phosphorsäure kommt, die im unmittelbaren Anschluß an den Kontraktionsvorgang, bei tetanischer Reizung schon während des Fortbestehens des Tetanus, wieder rückgängig gemacht wird. Eine den Kontraktionsaugenblick *überdauernde* Phosphorsäureabspaltung konnte im Gegensatz zu den eben erwähnten Versuchsergebnissen am Kaninchen und am Hunde für die Froschmuskulatur in längere Zeit zurückliegenden Versuchen von *Parnas* und *Wagner*[5]), sowie von *F. Laquer*[6]) nicht festgestellt werden. Erst in von uns gemeinsam vorgenommenen Untersuchungen aus der jüngsten Zeit, deren Ergebnisse zum Teil in der Klinischen

[1]) *Lange*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **137**, 105, 1924.

[2]) *Embden* und *Lange*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **130**, 350, 1923.

[3]) *Embden, Schmitz* und *Meincke*, ebendaselbst **118**, 10, 1921; *F. Cohn*, ebendaselbst **113**, 253, 1921.

[4]) *G. Embden* und *H. Lawaczeck*, diese Zeitschr. **127**, 181, 1922.

[5]) *Parnas* und *Wagner*, ebendaselbst **61**, 387, 1914.

[6]) *F. Laquer*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **93**, 60, 1914.

Wochenschrift veröffentlicht wurden[1]), zum Teil in der Zeitschrift für physiologische Chemie ausführlich publiziert werden sollen, konnte im Gegensatz zu den Resultaten der eben erwähnten älteren Arbeiten der Nachweis geführt werden, daß jede bis zu stärkerer Ermüdung fortgesetzte Reizung von Froschmuskeln zu einer auch nach Ablauf der Kontraktion nachweisbaren Lactacidogenspaltung unter entsprechender Vermehrung der anorganischen Phosphorsäure führt. Die Versuche wurden an isolierten Froschmuskeln zum Teil in Luft, zum Teil in mit Sauerstoff durchperlter Ringerlösung ausgeführt und auch auf die Reizung an ganzen Hinterschenkeln mit Erfolg ausgedehnt.

Das Ergebnis war hierbei im Wesen das gleiche, wenn nur die Reizung genügend lange fortgesetzt wurde. Bei direkter Reizung mit 55 maximal wirksamen Öffnungsinduktionsschlägen kommt es manchmal schon nach Ablauf von 5 Minuten, also nach 275 Zuckungen, stets aber nach 10 Minuten (550 Zuckungen) zu deutlicher Phosphorsäureabspaltung aus Lactacidogen. Bei länger fortgesetzter Reizung nimmt die Abspaltung zu, so daß nach dem Abschluß erschöpfender Reizung ein ganz erheblicher Teil des Lactacidogens gespalten sein kann.

Wir geben in Tabelle I einige wenige Versuchsbeispiele für die Phosphorsäureabspaltung nach verschieden langer Arbeit des isolierten Gastrocnemius und Semimembranosus wieder. In der Tabelle sind die an Esculenten vorgenommenen Versuche mit E, die an Temporarien ausgeführten mit T bestimmt.

In den Reihen 5 und 6 sind die Werte für den Gastrocnemius nach Ruhe und Arbeit angegeben, in den Reihen 8 und 9 die entsprechenden Zahlen für den Semimembranosus. Die Arbeitszeit schwankte zwischen 15 und 31 Minuten (Reihe 3). Die Versuche 1 bis 3 wurden in Luft, Versuch 4 in Ringerlösung vorgenommen. Überall ist nach der Arbeit der Phosphorsäuregehalt erheblich angestiegen, wobei die Phosphorsäureabspaltung, in Prozenten des Ruhewertes berechnet, zwischen 4,7 und 14,0 liegt. In Versuch 4 wurde bei der Berechnung die Zunahme des Wassergehalts beider Muskeln beim Hängen in der Ringerlösung festgestellt und die Ergebnisse der Phosphorsäurebestimmungen auf den ursprünglichen Wassergehalt umgerechnet.

Man sieht, daß die Phosphorsäurevermehrung durch Arbeit in Luft und auch in Ringerlösung sehr beträchtlich sein kann. Das gleiche Verhalten haben wir in hier nicht näher zu schildernden Versuchen auch für die Arbeit in Kochsalzlösung von 0,65 Proz. festgestellt.

Hiernach ist also die Phosphorsäureabspaltung aus Lactacidogen eine charakteristische Begleiterscheinung jeder längere Zeit fortgesetzten Arbeit von überlebenden Froschmuskeln.

[1]) *G. Embden*, Klin. Wochenschr. **3**, 1393, 1924.

In der vorliegenden Untersuchung suchten wir nun experimentelle Anhaltspunkte dafür zu gewinnen, daß entsprechend früher von uns geäußerten Anschauungen die charakteristischen Vorgänge im Lactacidogenwechsel bei der Tätigkeit tatsächlich infolge des Eindringens von Ionen in das Muskelinnere auftreten. Wir knüpften hierbei an die bereits von *Embden* und *Lehnartz*[1]) gemachte Feststellung an, daß Fluorionen am Muskelbrei eine besonders starke Lactacidogensynthese hervorrufen, ein Befund, der von *Lange* und *Mayer*[2]) auch für den ganzen Muskel nach kurzem Eintauchen in Fluoridlösung bestätigt werden konnte. Wenn es wirklich von außen eindringende Ionen sind, die den Lactacidogenwechsel beherrschen, so war zu erwarten, daß durch Änderung der ionalen Zusammensetzung der den Muskel umspülenden Außenflüssigkeit auch in solchen Mischungsverhältnissen, die noch eine Tätigkeit des Muskels zulassen, charakteristische Änderungen im Ablauf des Lactacidogenwechsels eintreten würden.

Methodische und biologische Beobachtungen.

Als Umgebungsflüssigkeit verwandten wir eine 0,65 proz. Kochsalzlösung[3]), in der außerdem Natriumfluorid in der Konzentration von m/50 gelöst war. Taucht man einen frisch präparierten, an Elektroden befestigten und mit Schreibhebeln versehenen Gastrocnemius in eine solche Lösung, so treten zunächst keinerlei auffällige Erscheinungen auf. Bringt man den einen von zwei Gastrocnemien in die eben beschriebene Kochsalz-Fluoridlösung, den anderen in reine Kochsalzlösung und reizt jetzt mit 55 maximal wirksamen Öffnungsinduktionsschlägen pro Minute unter gleichzeitiger Belastung beider Muskeln mit je 25 g, so sieht man, daß die Zuckungskurven der beiden Muskeln sich regelmäßig in charakteristischer Weise unterscheiden. In den ersten Minuten treten diese Unterschiede nicht deutlich hervor, aber bald werden die Zuckungen der Fluoridmuskeln, wie wir im folgenden die in dem Gemisch von Kochsalz und Natriumfluorid befindlichen Muskeln nennen werden, wesentlich höher als die der Kochsalzmuskeln. Doch dauert dieses Verhalten nicht lange an, schon nach Ablauf von

[1]) *G. Embden* und *E. Lehnartz*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **134**, 243, 1924.

[2]) *H. Lange* und *M. E. Mayer*, ebendaselbst **141**, 182, 1924.

[3]) Ringerlösung, welche außer 0,60 Proz. NaCl, 0,03 Proz. KCl, 0,02 Proz. $CaCl_2$, 0,02 Proz. $NaHCO_3$ enthielt, erwies sich als ungeeignet. Es kommt hierbei nämlich zu einer zunächst kolloidalen Ausfällung von CaF_2 und auch abgesehen davon vermindert nach den Erfahrungen unseres Instituts die gleichzeitige Anwesenheit von Ca-Ionen und F-Ionen in der Umgebungsflüssigkeit des Muskels die charakteristische synthesebegünstigende Wirkung, die den für sich zugesetzten Ca- und F-Ionen zukommt.

etwa 15 Minuten versagt der Fluoridmuskel mehr und mehr, um nach einer von Fall zu Fall etwas verschiedenen Zeit, z. B. 20 Minuten nach Versuchsbeginn, auch für stärkste Reize mit Induktionsschlägen unerregbar zu werden, während zu dieser Zeit der Kochsalzmuskel noch deutliche Zuckungen zeigt. Eine eingeschaltete Ruhepause führt am Kochsalzmuskel zu deutlicher Erholung, am Fluoridmuskel wird ein schon während des späteren Verlaufs seiner Zuckungskurve deutlicher Verkürzungsrückstand zu ausgeprägter Kontraktur. Von der Wiedergabe der in ihrem Verlauf sehr charakteristischen Kurven soll an dieser Stelle abgesehen werden, vielmehr sollen im folgenden nur die Ergebnisse chemischer Untersuchungen wiedergegeben werden, die wir an Fluoridmuskeln und auch an Kochsalzmuskeln unter verschiedenen Bedingungen ausführten.

Versuchsergebnisse.

In Tabelle II sind fünf im wesentlichen gleichartig angestellte Versuche wiedergegeben, die an den Gastrocnemien und an den Semimembranosi von Temporarien zweier Fänge vorgenommen wurden. Der eine Gastrocnemius eines Frosches wurde zur sofortigen Phosphorsäurebestimmung benutzt, der andere kam für eine Zeit, die zwischen 17 und 32 Minuten schwankte, in Fluoridkochsalzlösung, ohne daß er gereizt wurde. Von den Semimembranosi wurde der eine ebenso behandelt, d. h. er ruhte die gleiche Zeit wie der eine der Gastrocnemien in Fluoridkochsalzlösung, während der andere in Fluoridkochsalzlösung von der gleichen Zusammensetzung in der oben näher geschilderten Weise gereizt wurde. Die Muskeln wurden vor dem Eintauchen in die Flüssigkeit und am Schlusse des Versuchs einzeln gewogen. Die aufgetretenen Gewichtsveränderungen wurden bei der Ausrechnung der Versuche berücksichtigt, derart, daß das Ergebnis aller Phosphorsäurebestimmungen auf das ursprüngliche Muskelgewicht umgerechnet wurde, so daß alle Zahlen also unmittelbar miteinander vergleichbar sind.

Nach früheren Versuchen von *Embden* und *Adler*[1]) kommt es bei andauernder Muskeltätigkeit zum Austritt von Phosphorsäure in die Umgebungsflüssigkeit. Wir überzeugten uns in zahlreichen Untersuchungen davon, daß die austretende Phosphorsäuremenge so gering ist — sie beziffert sich nach der nephelometrischen Schätzung stets nach wenigen Mikrogrammen —, daß sie ohne merklichen Fehler vernachlässigt werden konnte.

Vergleichen wir zunächst die in den vertikalen Reihen 5 und 6 niedergelegten Phosphorsäurewerte für den sofort untersuchten und den nach dem Ruheaufenthalt in der Fluoridkochsalzlösung verarbeiteten

[1]) *G. Embden* und *E. Adler*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **118**, 1, 1922.

Tabelle I.

Nr.	Versuchsdatum 1924	Tierart	1 Gefangenschaftsdauer Tage	2 Versuchstemperatur °C	3 Reizdauer Min.	4 Reizzahl	5 Gastrocnemius Ruhewert	6 Gastrocnemius Arbeitswert	7 Zunahme der H_3PO_4 b. d. Arbeit in Proz. des Ruhemuskels	8 Semimembranosus Ruhewert	9 Semimembranosus Arbeitswert	10 Zunahme der H_3PO_4 b. d. Arbeit in Proz. des Ruhemuskels	Bemerkungen
							für H_3PO_4 in Proz. d. Muskels			für H_3PO_4 in Proz. des Muskels			
1	12. V.	♂ E.	5	15,0	15	825	0,330	0,351	6,4	0,343	0,359	4,7	In allen Versuchen betrug die Belastung des Gastrocnemius 25 g, die des Semimembranosus 25,3 g, die Reizfrequenz 55 pro Minute.
2	17. V.	♂ E.	2	15,0	25	1375	0,347	0,380	9,7	0,358	0,393	9,7	
3	9. V.	♂ E.	2	14,5	30	1650	0,338	0,366	8,2	0,340	0,376	10,6	
4	27. X.	♂ T.	3	14,5	31	1705	—	—	—	0,295	0,337	14,0	Der Ruhesemimembranosus hatte in Ringerlösung gehangen, der Arbeitssemimembranosus die gleiche Zeit in Ringerlösung gearbeitet.

Tabelle II.

Nr.	Versuchsdatum 1924	Tierart	1 Gefangenschaftsdauer Tage	2 Versuchstemperatur °C	3 Versuchsdauer Min.	4 Reizzahl	5 Gestrocnemius gleich verarbeitet	6 Gestrocnemius in NaCl + n/50 NaF gehangen	7 Abnahme der H_3PO_4 in 6 in Proz. von 5	8 Se.nime.nbranosus in NaCl + n/50 NaF gehangen	9 Se.nime.nbranosus in NaCl + n/50 NaF gearbeitet	10 Abnahme der H_3PO_4 in 9 in Proz. von 8
5	23. X.	♀ T	7	14,0	17	935	0,318	0,288	9,4	0,301	0,289	4,0
6	23. X.	♀ T	7	14,0	32	1760	0,342	0,258	24,7	0,299	0,263	12,0
7	23. X.	♀ T	7	14,0	31	1815	0,339	0,289	14,7	0,286	0,230	19,0
8	14. XII.	♀ T	30	15,5	26	1430	0,290	0,174	40,0	0,305	0,220	27,4
9	14. XII.	♂ T	30	15,5	26	1430	0,291	0,227	22,1	0,254	0,186	26,0

Gastrocnemius, so sehen wir, daß überall eine starke Abnahme der anorganischen Phosphorsäure eingetreten ist; die geringste Abnahme wurde in Versuch 5 beobachtet, wo der Anfangswert von 0,318 auf 0,288 Proz. (um 9,4 Proz.) absank, die stärkste in Versuch 8, in dem der Phosphorsäuregehalt um nicht weniger als 40 Proz. des Ausgangswertes zurückging. Dieses Versuchsergebnis steht in Übereinstimmung mit den Resultaten der oben erwähnten Arbeit von *H. Lange* und *M. E. Mayer*[1]), die freilich reine Fluoridlösungen von viel höheren Konzentrationen (0,48 bis 2,4 Proz.), als sie in unseren Versuchen zur Verwendung kamen, benutzten.

In der Reihe 8 ist der Phosphorsäuregehalt der Semimembranosi nach dem Ruheaufenthalt in der Fluoridkochsalzlösung wiedergegeben. Daß auch hier — vielleicht mit einer Ausnahme — ein zum Teil sehr beträchtliches Absinken der anorganischen Phosphorsäure stattfand, geht ohne weiteres aus einem Vergleich der Werte der Reihe 8 mit denen der Reihe 5 hervor. Der Phosphorsäuregehalt des frischen Semimembranosus ist nämlich, wie von *H. Behrendt*[2]) festgestellt wurde, stets merklich höher als der des frischen Gastrocnemius, ein Befund, den wir seitdem in zahlreichen Versuchen immer wieder bestätigen konnten. Der zum Teil sehr erhebliche Mindergehalt an anorganischer Phosphorsäure des Fluorid-Semimembranosus gegenüber dem frischen Gastrocnemius beweist daher ohne weiteres, daß auch am Semimembranosus der Aufenthalt in der Fluoridkochsalzlösung zu einer Verminderung der anorganischen Phosphorsäure führt. Nur in Versuch 8, in dem der ruhende Fluorid-Semimembranosus einen etwas höheren Phosphorsäuregehalt als der frische Gastrocnemius aufweist, ist eine Verminderung der Phosphorsäure im Ruhe-Semimembranosus nicht nachweisbar.

Ein Vergleich der Reihen 8 und 9, die über den Phosphorsäuregehalt nach gleich langem Aufenthalt in der Fluoridkochsalzlösung Aufschluß geben, wobei der eine Semimembranosus ruhte, der der Reihe 9 aber bis zu vollständiger Erschöpfung, die innerhalb der in Reihe 3 verzeichneten Zeit eintrat, arbeitete, zeigt ein völlig einheitliches Ergebnis: *Die Arbeitsmuskeln haben überall einen erheblich geringeren Gehalt an anorganischer Phosphorsäure als die Ruhemuskeln.* Am geringsten ist der Unterschied in Versuch 5, wo er 4 Proz. des höheren Wertes beträgt, aber weit außerhalb der Fehlerbreite der Bestimmung liegt, die 1 Proz. nicht überschreitet. Weit größer sind die Unterschiede in den übrigen Versuchen, namentlich in den Versuchen 8 und 9 (Abnahme der Phosphorsäure um 27,4 und 26,0 Proz.).

---

[1]) *H. Lange* und *M. E. Mayer*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **141**, 182, 1924.
[2]) *H. Behrendt*, ebendaselbst **118**, 123, 1922.

Wir sehen also, daß, während ermüdende Arbeit in Luft, Ringerlösung und Kochsalzlösung regelmäßig zu starker Lactacidogen*spaltung* führt, erschöpfende Arbeit in Fluoridkochsalzlösung von der von uns gewählten Zusammensetzung umgekehrt starke Lactacidogen*synthese* herbeiführt. Verlegen wir den Ort des Lactacidogenwechsels in das Fibrilleninnere, wozu nach allem, was wir wissen, Berechtigung besteht, so ist die schon von *Lange* und *Mayer*[1]) gemachte und von uns bestätigte Beobachtung, daß Ruheaufenthalt überlebender Muskeln in Fluoridlösung zur Lactacidogensynthese führt, nicht anders zu deuten als durch das Eindringen von Fluorionen in das Muskelinnere (durch die nur beschränkt durchlässigen sarkoplasmatischen Grenzschichten hindurch). Wenn nun aber die Lactacidogensynthese an bis zur Erschöpfung gereizten Fluoridarbeitsmuskeln erheblich stärker als an Fluoridruhemuskeln ist, so läßt sich dieses Verhalten unseres Erachtens nicht anders erklären als dadurch, daß eine mit der Tätigkeit verbundene Permeabilitätssteigerung den Eintritt der Fluorionen begünstigt.

Schon die unter Leitung des einen von uns von *H. Vogel*[2]) ausgeführten Untersuchungen über die Kalilähmung hatten zu der Anschauung geführt, daß die Kaliumionen dadurch lähmend wirken, daß sie in das Innere des Muskels eindringen, und insbesondere wurde die die Lähmung beschleunigende Wirkung vorangehender Muskelarbeit mit erleichtertem Eintritt von Kaliumionen durch die Steigerung der Permeabilität bei der Tätigkeit zu erklären versucht[3]).

In zum Teil oben erwähnten früheren Untersuchungen hat der eine von uns des öfteren die Anschauung vertreten, daß die Lactacidogenspaltung im Kontraktionsaugenblick und gerade die Abspaltung der *Phosphorsäure* aus dem Lactacidogen die unmittelbare Ursache der Muskelkontraktion wäre. Ist diese Anschauung mit dem eben geschilderten Verhalten vereinbar? Wir möchten diese Frage durchaus bejahen und glauben, daß in unseren Versuchen die Arbeitsfähigkeit der Fluoridmuskeln gerade deswegen so frühzeitig aufhörte, weil schließlich die Fluorionen die gleichzeitig mit ihnen eintretenden Chlorionen (und vielleicht auch die Na-Ionen) in ihrer Wirkung auf den Lactacidogenwechsel so stark überwogen, daß es überhaupt zu keiner, oder jedenfalls zu keiner ausreichenden Phosphorsäureabspaltung im Augenblick der jedesmaligen Erregung kommen konnte. Denn die Chlorionen begünstigen nach unseren früheren Feststellungen die Lactacidogenspaltung und hemmen die Lactacidogensynthese, die Fluorionen verhalten sich umgekehrt. Man kann im Anschluß an

[1]) *H. Lange* und *M. E. Mayer*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **141**, 182, 1924.

[2]) *H. Vogel*, ebendaselbst **118**, 50, 1922.

[3]) Siehe übrigens auch die Caesium- und Rubidiumversuche von *Mitchell*, *Wilson* und *Stanton*, Journ. of gen. physiol. **4**, 141, 1921.

einen von *Ewald Hering* geprägten Ausdruck auch sagen, daß die Chlorionen die *dissimilatorische*, die Fluorionen die *assimilatorische* Phase des Lactacidogenwechsels verstärken. Wenn in Luft, Ringerlösung oder Kochsalzlösung länger fortgesetzte Reizung des Muskels zu einer den Kontraktionsaugenblick überdauernden Lactacidogenspaltung führt und dieser Effekt sich immer mehr verstärkt, bis der Muskel unerregbar geworden ist, so dürfen wir den so eintretenden „Stillstand" des Muskels auch gegenüber stärksten Reizen vielleicht als dissimilatorischen Stillstand bezeichnen, und wenn andererseits bei erschöpfender Reizung in fluoridhaltiger Kochsalzlösung der Muskel sich nicht mehr kontrahiert, so handelt es sich demgegenüber allem Anschein nach um ein assimilatorisches Aufhören der Muskelfunktion. Unter natürlichen Bedingungen kommt es wohl deswegen nach ermüdender Reizung zu einer *Spaltung* von Lactacidogen, weil die beim Kontraktionsvorgang dissimilatorisch wirksamen Ionen im Gegensatz zum Verhalten bei künstlich zugesetztem Fluorid die assimilatorisch wirksamen übertönen.

Mit dieser Anschauung stimmen nun verschiedene weitere Beobachtungen auf das beste überein. Zunächst konnte in einer Reihe übereinstimmender, aber noch nicht zum Abschluß gelangter Versuche festgestellt werden, daß beim Vergleich der beiderseitigen Muskeln in Natriumfluoridlösungen, wobei der eine der Muskeln ruht und der andere arbeitet, und *frühzeitiger* Unterbrechung des Versuchs (bevor die Erschöpfung eingetreten ist) im Arbeitsmuskel die Lactacidogensynthese entweder schwächer oder nur wenig stärker als im Ruhemuskel ist.

Allem Anschein nach erreicht die Lactacidogensynthese gerade erst gleichzeitig mit der völligen oder annähernd völligen Erschöpfung ihren höchsten Wert. Auch der oben geschilderte Verlauf der Zuckung bei Einzelreizung in Fluoridkochsalzlösung scheint uns ganz in dem Sinne der versuchten Erklärung zu sprechen. Zu Beginn der Reizungsperiode tritt von den beiden konkurrierenden Anionen — dem Chlorion und dem Fluorion — lediglich die Wirkung des ersteren — in weitaus größerer Konzentration vorhandenen — in die Erscheinung, und der Zuckungsverlauf in der Fluoridkochsalzlösung unterscheidet sich nicht von dem in reiner Kochsalzlösung. In der nächsten Periode, der der verstärkten Zuckungen in der Fluoridkochsalzlösung, ist im Kontraktionsmoment die dissimilatorische Wirkung der Chlorionen noch weitgehend erhalten und die in erhöhter Leistungsfähigkeit des Muskels zum Ausdruck kommende Fluorwirkung besteht vielleicht im wesentlichen in einer Begünstigung des Wiederaufbaues des Lactacidogens in der Erschlaffungsphase, derart, daß die zu Beginn jeder Zuckung erfolgende Phosphorsäureabspaltung größer als gewöhnlich sein kann.

Indem die relative Wirkungsstärke beider Ionen sich immer mehr zugunsten des Fluorions verschiebt, wird der dissimilatorische Zerfall unter der Einwirkung der Chlorionen immer geringer und schließlich so gering, daß die Zuckung überhaupt nicht mehr zustande kommen kann.

Der Verlauf der Zuckungskurven steht also aufs beste mit der oben entwickelten Anschauung im Einklang, daß bei fortgesetzter Reizung des normalen Muskels die Unerregbarkeit dadurch mitbedingt wird, daß der *Wiederaufbau* des Lactacidogens unzureichend wird, während bei Reizung des Fluoridmuskels umgekehrt der für die Kontraktion notwendige Lactacidogen*abbau* zu stark geschädigt ist. Bei dem unauflöslichen Zusammenhang, der allem Anschein nach zwischen verschiedenartigen Ionenwirkungen auf den fermentativen Lactacidogenwechsel und der Beeinflussung von kolloidalen Begleitstoffen durch eben diese Ionen besteht, dürften den beobachteten Gegensätzlichkeiten im Lactacidogenwechsel ähnliche Unterschiede im Kolloidzustand nach erschöpfender Reizung mit und ohne Fluorid entsprechen.

Die Berechtigung dieser Anschauung werden wir weiterhin experimentell zu prüfen versuchen.

Beobachtungen über den Blutzucker der Ziege.

Von

Karl Schuhecker.

(Aus dem physiologischen Institut der Hochschule für Bodenkultur in Wien.)

(Eingegangen am 24. Januar 1925.)

Mit 4 Abbildungen im Text.

So reichlich die Literatur Arbeiten über den Blutzucker von Menschen, Kaninchen und Hunden aufweist, so spärlich berichtet sie über solche Untersuchungen an Wiederkäuern. In jüngster Zeit haben *A. Scheunert*[1][2]) und *H. v. Pelchrzim*[1]) und ihre Mitarbeiter den Blutzucker und dem Reststickstoff angehörige Substanzen an landwirtschaftlichen Haustieren, zum Teil unter Berücksichtigung der Ernährung, bestimmt. Die beiden genannten Autoren haben von Wiederkäuern das Rind und das Schaf untersucht. Um den Einfluß der Fütterung zu prüfen, wurde das Blut von Milchkühen je zweimal, einmal auf der Höhe der Verdauung und einmal nüchtern, untersucht. Sie fanden in 100 ccm Blut auf der Höhe der Verdauung Werte zwischen 62,5 und 82,5 mg Zucker, nüchtern schwankte der gefundene Wert zwischen 66,7 und 100 mg. Sie fanden bald den Wert auf der Höhe der Verdauung höher, bald den Nüchternwert höher als den anderen. Diese beiden Werte sind aber vor allem gar nicht zu vergleichen; denn die auf der Höhe der Verdauung angestellte Versuchsreihe wurde Ende März 1922, die nüchtern angestellte Versuchsreihe Anfang Mai 1922 ausgeführt.

Über Schafe und Ziegen liegen nur vereinzelte Bestimmungen verschiedener Autoren vor. Da wegen der dauernden Füllung des Wiederkäuermagens und infolgedessen ziemlich gleichmäßig andauernden Resorption von Nährstoffen ein besonderes Verhalten des Blutzuckers zu erwarten ist, so habe ich auf Veranlassung von Prof. *Robert Stigler* diesbezügliche Untersuchungen ausgeführt.

Verwendet wurden hierzu zwei weibliche Ziegen, eine erwachsene und eine etwa 8 Monate alte.

---

[1]) *A. Scheunert* und *H. v. Pelchrzim*, diese Zeitschr. **139**, 17, 1923.
[2]) *A. Scheunert*, Berl. tierärztl. Wochenschr. **39**, 291, 1923.

Die Blutentnahme erfolgte, während den Tieren der Kopf gehalten wurde, aus den Ohrvenen mit Hilfe eines etwa 5 mm langen Hautschnittes. Sehr oft konnte aus derselben Schnittwunde wiederholt Blut entnommen werden — für 20 und mehr Proben genügten zwei bis 4 Einschnitte —, so daß eine Beeinflussung des Blutzuckerspiegels durch Schmerz möglichst vermieden werden konnte.

Die Aufarbeitung des Blutes geschah im Wesen nach der *Bang*schen Mikromethode.

Die Tiere wurden bei Zimmertemperatur gehalten.

1. Zeitliche Verschiedenheiten im Verhalten des Blutzuckers.

Zunächst schien es mit Rücksicht auf die Eigenart des Digestionstraktes des Wiederkäuers wichtig, die Tagesschwankungen seines Blutzuckers kennenzulernen.

Tabelle I bzw. Abb. 1 und 2 geben die Blutzuckerwerte wieder, die zu verschiedenen Tageszeiten bei reichlicher Nahrungszufuhr gefunden wurden. Die Tiere hatten ständig Heu und Burgunderrüben zur Verfügung, mittags bekamen sie außerdem noch mit heißem Wasser und etwas Kochsalz angerührte Kleie, von der sie jedoch nur wenig fraßen.

Tabelle I.

Die Tiere konnten fressen, wann und wieviel sie wollten.

Ältere Ziege			Jüngere Ziege		
Tag	Tagesstunde	mg Zucker in 100 ccm Blut	Tag	Tagesstunde	mg Zucker in 100 ccm Blut
12. I.	8h15'	60	12. I.	8h45'	62
	11 15	53		11 45	64
	1 45	55		2 15	61
	4 30	53		4 45	61
	7 15	53		7 30	57

Tabelle II und III bzw. Abb. 1 und 2 enthalten die Blutzuckerwerte, welche bei Untersuchung in zweistündigen Intervallen an den folgenden 2 Tagen gefunden wurden, während die Tiere dreimal am Tage zu bestimmter Zeit gefüttert wurden. Die Art und Menge des Futters war die gleiche, die Fütterungszeiten sind aus den Tabellen ersichtlich.

Tabelle II.

Tag	Tagesstunde	Fütterungszeit und Art des Futters	Ältere Ziege mg Zucker in 100 ccm Blut	Jüngere Ziege mg Zucker in 100 ccm Blut
13. I.	8h	8h15' Heu, Burgunderrüben	52	62
	10		49	56
	12	1h15' Kleie, Heu, Burgunderrüben	49	56?
	2		50	55
	4	5h30' Heu, Burgunderrüben	49	60
	6		53	58

Tabelle III.

Tag	Tagesstunde	Fütterungszeit und Art des Futters	Ältere Ziege mg Zucker in 100 ccm Blut	Jüngere Ziege mg Zucker in 100 ccm Blut
14. I.	8h	9h30′ Heu, Burgunderrüben	52	52
	10		49	53
	12	1h15′ Kleie, Heu, Burgunderrüben	49	53
	2		49	58
	4	5h15′ Heu, Burgunderrüben	56	56
	6		53	56

Tabelle IV.

Jüngere Ziege.

Tag	Tagesstunde	mg Zucker in 100 ccm Blut	Fütterungszeit und Art des Futters
16. I.	8h	56	
	9	56	9h30′ Heu, Burgunderrüben
	10	58	
	11	56	
	12	54	12h Kleie, Heu, Burgunderrüben
	1	56	
	2	56	
	3	61	
	4	56	
	5	58	5h30′ Heu, Burgunderrüben
	6	59	
	7	56	

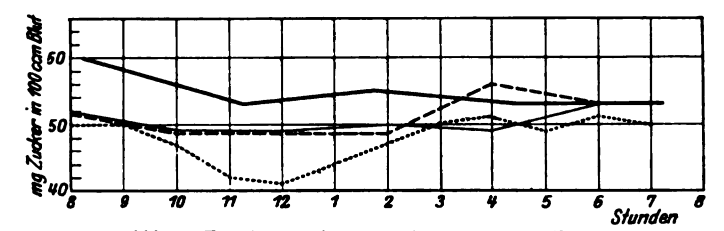


Abb. 1. Tageskurven des Blutzuckers der älteren Ziege.
——— Tageskurve vom 12. I. (Tab. I). - - - - - Tageskurve vom 14. I. (Tab. III).
— — „ „ 13. I. (Tab. II). ······· „ „ 19. I. (Stundenkurve, Tab. V).
(Nach zweitägigem, nicht absolutem Hunger.)

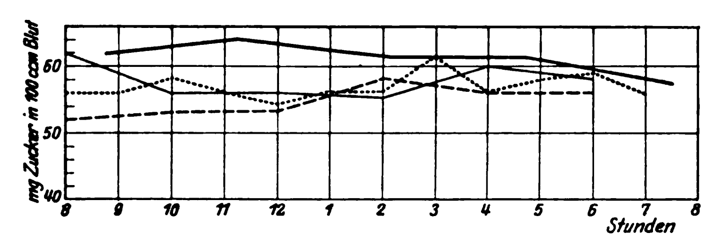


Abb. 2. Tageskurven des Blutzuckers der jüngeren Ziege.
——— Tageskurve vom 12. I. (Tab. I). - - - - - Tageskurve vom 14. I. (Tab. III).
— — „ „ 13. I. (Tab. II). ······· „ „ 16. I. (Stundenkurve, Tab. IV).

In Tabelle IV bzw. Abb. 2 sind die Werte bei stündlichen Untersuchungen des jüngeren Tieres unter denselben Versuchsbedingungen wie früher verzeichnet. Diese Untersuchung fand 2 Tage später statt.

Der Blutzucker des älteren Tieres zeigt mit Ausnahme des ersten Wertes der Tabelle I große Gleichmäßigkeit. Der der jüngeren Ziege ebenfalls, wenn man vom ersten Tage, der etwas höhere Werte lieferte, absieht. Die Wahrscheinlichkeit besteht, daß die hohen Werte am ersten Tage, also zu Beginn der Untersuchungen, auf die den Tieren ungewohnte Prozedur bei der Blutentnahme zurückzuführen sind; vor allem dürfte dies bei dem jüngeren, empfindlicheren Tiere zutreffen.

Faßt man alle 3 Versuchstage der älteren Ziege zusammen, so ergibt sich: Das arithmetische Mittel beträgt 52 mg Zucker in 100 ccm Blut. Die Differenz des höchsten (60 mg) und niedrigsten Wertes (49 mg) = 11 mg, das sind 21,2 Proz. des mittleren Wertes.

Für die 4 Versuchstage des jüngeren Tieres lauten die entsprechenden Zahlen: Arithmetisches Mittel = 57,3 mg Zucker in 100 ccm Blut. Differenz des höchsten (64 mg) und niedrigsten Wertes (52 mg) = 12 mg, das sind 20,9 Proz. des mittleren Wertes.

Berücksichtigt man nur den zweiten, dritten und vierten Tag, so ergibt sich: Arithmetisches Mittel = 56,5 mg Zucker in 100 ccm Blut. Differenz des höchsten (62 mg) und niedrigsten Wertes (52 mg) = 10 mg, das sind 17,7 Proz. des mittleren Wertes.

Wesentliche Schwankungen der Durchschnittswerte an den verschiedenen Tagen untereinander sind dementsprechend gleichfalls nicht zu finden: Die Differenz des höchsten (54,8 mg) und niedrigsten täglichen Durchschnittswertes (50,3 mg) an den 3 Versuchstagen des älteren Tieres beträgt 4,5 mg, das sind 8,7 Proz. des arithmetischen Mittels aller 3 Tage (52 mg).

Für das jüngere Tier ergeben sich für alle 4 Versuchstage als Differenz des höchsten (61 mg) und niedrigsten täglichen Durchschnittswertes (54,7 mg) 6,3 mg, das sind 11 Proz. des arithmetischen Mittels aller 4 Tage (57,3 mg).

Nimmt man nur auf den zweiten, dritten und vierten Versuchstag Rücksicht, so lauten die entsprechenden Zahlen: Differenz des höchsten (57,8 mg) und niedrigsten (54,7 mg) täglichen Durchschnittswertes 3,1 mg, das sind 5,5 Proz. des arithmetischen Mittels (56,5 mg).

Auch große Schwankungen im Verlaufe eines und desselben Tages, wie sie beim Menschen in Abhängigkeit von Kohlehydratzufuhr angetroffen werden — die Steigerung kann dabei 100 Proz. des Ausgangswertes betragen —, waren bei der Ziege und sind wohl auch bei allen Wiederkäuern unter den gegebenen Ernährungsbedingungen nicht zu finden und waren auch nicht zu erwarten, da die Resorption von Nährstoffen aus dem Darm beim Wiederkäuer andauernd und vermutlich ziemlich gleichmäßig stattfindet: es beträgt bei der älteren Ziege der Unterschied zwischen dem höchsten und niedrigsten Blutzuckerwert am ersten Tage (Tabelle I) 7 mg, am zweiten Tage (Tabelle II) 4 mg, am dritten Tage (Tabelle III) 7 mg; da das arithmetische Mittel der am ersten Tage gefundenen Werte 54,8 mg, der Werte des zweiten Tages 50,3 mg, der Werte des dritten Tages 51,3 mg Zucker in 100 ccm Blut ergibt, so sind dies am ersten Tage 12,8 Proz., am zweiten Tage 8 Proz., am dritten Tage 13,6 Proz. der mittleren Werte.

Die entsprechenden Zahlen für das jüngere Tier sind folgende: Arithmetisches Mittel: am ersten Tage 61 mg, am zweiten Tage 57,8 mg, am

dritten Tage 54,7 mg, am vierten Tage 56,8 mg Zucker in 100 ccm Blut. Differenz zwischen höchstem und niedrigstem Werte: am ersten Tage (Tabelle I) 7 mg, am zweiten Tage (Tabelle II) 7 mg, am dritten Tage (Tabelle III) 6 mg, am vierten Tage (Tabelle IV) 7 mg, das sind am ersten Tage 11,5 Proz., am zweiten Tage 12,1 Proz., am dritten Tage 11 Proz. und am vierten Tage 12,3 Proz. der mittleren Werte.

Abderhalden[1]) fand bei *einer* Ziege 0,082 Proz. Blutzucker; *Ch. Porcher*[2]) bei einer trächtigen Ziege, der zu Versuchszwecken die Mamma amputiert worden war, 2 Tage vor der Entbindung im Liter Blut 0,44 g Zucker (ohne Glykosurie), 1¾ Stunden nach der Entbindung 2,85 g (mit Zuckerausscheidung im Harn), 4 Tage nach der Entbindung 0,3 g (ohne Glykosurie); in *R. Eges*[3]) Arbeiten über die Verteilung des Zuckers zwischen Blutkörperchen und Plasma sind für Ziegenblut 0,039, 0,034, 0,059 und 0,077 Proz. Zucker im Gesamtblut verzeichnet.

Nach diesen Angaben und meinen eigenen Untersuchungen kann das *Ziegenblut* einen ziemlich geringen physiologischen Zuckergehalt besitzen, ja vielleicht den niedrigsten unter Rind, Schaf und Ziege. *A. Scheunert*[4]) hat beim *Schaf* Werte von 50,9 bis 89,9 mg in 100 ccm Blut gefunden; *A. Bodansky, Sutherland Simpson* und *S. Goldberg*[5]) 60 bis 68 mg beim *normalen* Schaf, 51 bis 57 mg hingegen beim *thyreopriven* Tier. Letzteres sind aber Werte, die bei der Ziege anscheinend zu den *normalen* gehören. Beim *Rind* wurden von verschiedenen Autoren Blutzuckerwerte zwischen 60 und 150 mg bestimmt.

Tabelle V bzw. Abb. 1 zeigen eine Stundenkurve der älteren Ziege, nachdem sie 2 Tage vorher, und zwar besonders am zweiten Tage, sehr wenig Futter, ausschließlich Heu, erhalten hatte. Am Tage der Untersuchung wurde erst mittags reichlich Kleie, die diesmal mit größter Freßlust verzehrt wurde, dann Heu, abends wieder Heu und Kleie gegeben.

Tabelle V.

Ältere Ziege nach zweitägigem nicht absolutem Hunger.

Tag	Tagesstunde	mg Zucker in 100 ccm Blut	Fütterungszeit und Art des Futters
19. I.	8h	50	
	9	50	
	10	47	
	11	42	
	12	41	12h reichlich Kleie und Heu
	1	44	
	2	47	
	3	50	
	4	51	
	5	49	5h30' Kleie und Heu
	6	51	
	7	50	

[1]) *Abderhalden*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **25**, 65, 1898.
[2]) *Ch. Porcher*, C. r. d. séanc. de la soc. de biol. **57**, 802, 1905.
[3]) *R. Ege*, diese Zeitschr. **111**, 189, 1920.
[4]) *A. Scheunert*, l. c.
[5]) *A. Bodansky, Sutherland Simpson* und *S. Goldberg*, Proc. of the soc. f. exper. biol. a. med. **20**, 195, 1922.

Die Werte sind außer den beiden ersten in den Vormittagsstunden, ja selbst noch nach Mittag niedriger als sonst und erreichen erst um 3 Uhr nachmittags den früher bei normaler Nahrungsaufnahme gefundenen Stand. Ob diese niedrigen Blutzuckerwerte wirklich auf Hunger zu beziehen sind, muß, da jede Erfahrung darüber beim Wiederkäuer fehlt, weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben; zeigt doch das Kaninchen, das als Pflanzenfresser noch am ehesten zum Vergleich herangezogen werden könnte, auch nach mehrtägigem Hunger ein überraschend zähes Festhalten an seinem Blutzuckergehalt[1]), während andererseits für den menschlichen Säugling[2]) und für die Katze[3]) im Hungerzustand ein Absinken des Blutzuckers beschrieben wurde.

Bei so niedrigen Blutzuckerwerten erschien es interessant, das Verhalten des Blutzuckers auf Reize zu prüfen, die ihn wesentlich zu erhöhen oder zu erniedrigen imstande sind. Geprüft wurde der Einfluß der *Arbeit*, des *Adrenalins* und des *Insulins*.

2. Arbeitsversuche.

Um die Reaktion auf Arbeit kennenzulernen, wurde das jüngere Tier 1 Stunde lang im mäßigen Laufschritt mit kleinen Unterbrechungen herumgetrieben, bis es auch durch Zerren nicht mehr zum Laufen zu bringen war, also bis zur merklichen Ermüdung.

Die Blutuntersuchung wurde unmittelbar vor dem Herumlaufen, sofort nach dem Laufen und hierauf in einstündigen Intervallen ausgeführt. Die Ergebnisse sind aus Tabelle VI und Abb. 3 ersichtlich. Der Blutzucker war am Ende der Arbeitsleistung um mehr als das Doppelte emporgestiegen, fällt in der nächsten Stunde größtenteils wieder ab, hat nach 2 Stunden den ursprünglichen Stand noch nicht erreicht und befindet sich erst 3 Stunden nach dem Arbeitsende in der Nähe des Ausgangswertes. Es sei noch vermerkt, daß das Tier an diesem Tage erst nach der letzten Blutentnahme fressen durfte.

Tabelle VI.

Jüngere Ziege; Einfluß der Arbeit.

Tag	Tagesstunde	Leistung	mg Zucker in 100 ccm Blut
17. I.	10h30'	unmittelbar vor der Arbeit	55
		10h30' bis 11h30' Laufarbeit	—
	11 30	unmittelbar nach der Arbeit	117
	12 30		64
	1 30		61
	2 30		56

Tags darauf wurde der Arbeitsversuch wiederholt. Das Tier wurde jedoch nur 3/4 Stunden lang zum Laufen angehalten. Aus Tabelle VII bzw. Abb. 3 geht hervor, daß der stärkste Abfall der Blutzuckerkurve bereits in der ersten 1/2 Stunde statthat; 2 Stunden später war auch diesmal der Ausgangswert noch nicht erreicht.

---

[1]) *Underbill*, Journ. of biol. Chem. **20**, 203, 1915.

[2]) *Lindberg*, Zeitschr. f. Kinderheilk. **15**, 71, 1917; *F. Rumpf*, Jahrb. f. Kinderheilk. **105**, 3. Folge, 55, 321, 1924.

[3]) *F. Scott*, Amer. Journ. of Physiol. **34**, 27, 1914.

Tabelle VII.
Jüngere Ziege: Einfluß der Arbeit.

Tag	Tagesstunde	Leistung	mg Zucker in 100 ccm Blut
18. I.	9h 15'	vor der Arbeit	50
		9h 30' bis 10h 15' Laufarbeit	—
	10 15	unmittelbar nach der Arbeit	94
	10 45		65
	11 45		54
	12 45		55
	1 45		53

Ob sich an diese Hyperglykämie nach Arbeit eine hypoglykämische Phase, wie beim Menschen[1]), anschließt, wurde nicht untersucht. Nach *Weiland*[2]), der Hypo-, und *Lichtwitz*[3]), der gelegentlich auch Hyperglykämie nach Arbeit beobachtete, war das Verhalten der Arbeitsglykämie Gegenstand zahlreicherer Untersuchungen. *Grote*[4]) fand, daß die Blutzuckerkurve nach Arbeit im allgemeinen horizontal verlaufe, wenn die Muskelarbeit nicht willkürlich geleistet wurde, sondern durch Faradisation der Muskel der sonst passiven Versuchsperson. *Grote* glaubt, daß die Steigerung des Blutzuckers nach Arbeit, wie sie manche Autoren fanden, auf die CO_2-Überladung des Blutes infolge der Arbeit zurückzuführen sei. Mir scheint aber, daß die Faradisationsarbeit mit der normalen willkürlichen Arbeit nicht ohne weiteres verglichen werden kann, ganz abgesehen davon, daß erstere kaum zu messen ist, wenigstens bei *Grotes* Versuchsanordnung. *Scheunert*[5]) konnte bei Pferden bei 5 bis 6 Stunden langer Zugarbeit in Schritt und Trab mit öfterem Anhalten (bei üblicher Tagesarbeit) keine Änderung des Blutzuckers feststellen. Es fragt sich auch hier, wie groß die Leistung, vor allem ihr Tempo, war im Vergleich zur maximalen Leistungsfähigkeit. In neuester Zeit fand ferner *Rakestraw*[6]) bei Menschen nach 10 bis 15 Minuten lang dauernder starker körperlicher Anstrengung ein Ansteigen des Blutzuckers um 35 mg in 100 ccm Blut, nach 12stündigem Radfahren ein Absinken um 5 mg; in fortgesetzten Untersuchungen[7]) zeigte sich nach 10 Minuten langem erschöpfenden Treppensteigen ein Ansteigen des Blutzuckers unmittelbar nach Arbeitsende; 1½ Stunden später bestand Hypoglykämie.

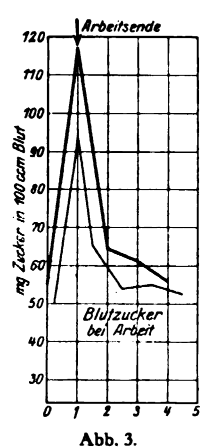


Abb. 3.
—— Blutzucker bei 1 stündiger Arbeit
— Blutzucker bei ¾ stündiger Arbeit

Ansteigen der Zuckerwerte nach körperlicher Arbeit hat bei Kindern *Johnson*[8]) beobachtet.

[1]) *M. Bürger*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **5**, 125, 1917.
[2]) *Weiland*, Deutsches Arch. f. klin. Med. **92**, 1908.
[3]) *Lichtwitz*, Berl. klin. Wochenschr. 1914, Nr. 22.
[4]) *Grote*, Zentralbl. f. inn. Med. **39**, 353, 1918.
[5]) *A. Scheunert* und *M. Bartsch*, diese Zeitschr. **139**, 34, 1923.
[6]) *N. W. Rakestraw*, Journ. of biol. Chem. **47**, 565, 1921.
[7]) *Derselbe*, ebendaselbst **56**, 121, 1923.
[8]) *B. J. Johnson*, Journ. of comp. psychol. **2**, 155, 1922.

Zu meinen Versuchen wäre noch zu bemerken, daß das Anhalten der Ziegen zum Laufen mit einer schwer abschätzbaren psychischen Erregung der Tiere verbunden sein kann. Mit Rücksicht auf die gefundene beträchtliche Reaktion auf Arbeit scheint die Ziege ein für Versuche über den Einfluß von Muskelarbeit auf den Blutzucker besonders geeignetes Tier zu sein.

8. Adrenalinversuche.

Es wurde zunächst dem älteren Tiere 1 mg l-Suprarenin Höchst synthetisch subkutan injiziert. Das Blut wurde unmittelbar vor der Injektion, in der ersten Stunde nach der Injektion in ¼stündigen, in der zweiten Stunde in ½stündigen Abständen untersucht.

Tabelle VIII.
Ältere Ziege; Adrenalinversuch.

Tag	Tagesstunde	Leistung	mg Zucker in 100 ccm Blut
20. I.		unmittelbar vor der Adrenalininjektion	47
	12h45'	1 mg Suprarenin synth. (Höchst) subkutan	—
	1		47
	1 15		50
	1 30		54
	1 45		58
	2 15	Unruhe	70
	2 45	Aufregungszustände, Tachypnoe	83

Aus Tabelle VIII bzw. Abb. 4 ergibt sich, daß ein Ansteigen des Blutzuckers erst nach ½ Stunde verzeichnet werden konnte. Am Ende der ersten Stunde zeigte sich eine Zunahme um 11 mg, innerhalb der nächsten Stunde um 25 mg Zucker.

Weitere Bestimmungen unterblieben, da das Tier 1½ Stunden nach der Supraremininjektion sehr unruhig wurde, mit der Stirn gegen die Stallwände anrannte und schließlich eine enorme Tachypnoe aufwies (gegen 150 Atemzüge in der Minute). Krampfartiges Emporheben des Steißes und Schwanzes, verbunden mit Vortreten der Vulva, bald Niederlegen, bald Aufspringen wurden von Herrn Dr. *Bitterlich*, Honorardozenten für Tierarzneikunde an der Hochschule für Bodenkultur in Wien, als Uterusreizung gewertet[1]). Erst nach 6 Stunden beruhigte sich das Tier.

Um keine so heftige motorische Unruhe hervorzurufen, die, wie die Befunde bei Arbeit lehrten, schon allein ein beträchtliches Ansteigen des Blutzuckers bewirken kann, wurde beim nächsten Versuch dem jüngeren Tier die halbe Dosis, 0,5 mg des gleichen Präparates, subkutan injiziert.

Tabelle IX bzw. Abb. 4 zeigt ein langsames Ansteigen der Blutzuckerwerte in den ersten 2 Stunden um 14 mg, ein rascheres um 22 mg in den nächsten 2 Stunden, also ähnliche, nur protrahierte Verhältnisse, wie bei der ersten Ziege. 4 Stunden nach der Injektion war der Höhepunkt erreicht, weitere 4 Stunden später aber noch lange nicht der Ausgangswert. Hier führe ich zum Vergleich die von *J. Bang*[2]) bei einem Kaninchen gefundenen

---

[1]) Es war dies ein Verhalten, wie es klinisch bei drohendem Abortus beobachtet wird.

[2]) *J. Bang*, Der Blutzucker, S. 93. Wiesbaden, F. J. Bergmann, 1913.

Werte nach subkutaner Injektion von 0,1 mg Adrenalin, einer im Verhältnis zum Körpergewicht näherungsweise gleichen Dosis, wie bei meinem Versuche, an: Präformierter Zucker 0,11 Proz., nach 30 Minuten 0,18 Proz., nach weiteren 30 Minuten 0,18 Proz., 2 Stunden nach der Injektion 0,19 Proz., 4 Stunden nach der Injektion 0,13 Proz.

Tabelle IX.

Jüngere Ziege; Adrenalinversuch.

Tag	Tagesstunde	Leistung	mg Zucker in 100 ccm Blut
21. I.		unmittelbar vor der Adrenalininjektion	59
	10h30'	0,5 mg Suprarenin synth. (Höchst) subkutan	—
	11		67
	11 30		68
	12 30		73
	1 30		85
	2 30		95
	3 30		91
	6 30		77

Beim Menschen findet man nach subkutanen Adrenalindosen von 0,6 bis 1 mg den Beginn des Anstiegs der Blutzuckerkurve nach 10 bis 15 Minuten, den Höhepunkt 1 bis 2 Stunden nach der Injektion, 2 bis 3 Stunden später 3 bis 5 Stunden lang dauernde Hypoglykämie.

Bei der untersuchten Ziege war also im Vergleich zum Menschen und Kaninchen der Verlauf der hyperglykämischen Reaktion bedeutend in die Länge gezogen; nicht nur der Anstieg erfolgte langsamer, sondern auch der Abfall zum Ausgangswert. Vielleicht setzt auch der Beginn des Anstiegs etwas später ein. Das Maximum der Steigerung betrug nach 0,5 mg Suprarenin 36 mg, das sind 61 Proz. des ursprünglichen Standes. Eine besondere Unruhe, Krämpfe oder Tachypnoe waren nicht vorhanden. Ob eine hypoglykämische Phase der Hyperglykämie folgt, blieb ununtersucht.

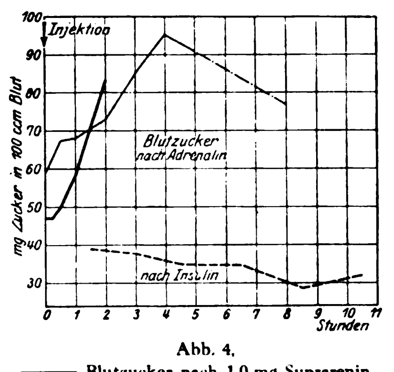


Abb. 4.
——— Blutzucker nach 1,0 mg Suprarenin (ältere Ziege)
.... Blutzucker nach 0,5 mg Suprarenin (jüngere Ziege)
---- Blutzucker nach Insulin (jüngere Ziege)

Die Adrenalinversuche wurden gleichfalls nüchtern, soweit dieses Wert beim Wiederkäuer berechtigt ist, durchgeführt. Am Vortage war Kleie und Heu verfüttert worden.

Da nach *L. A. Tatum*[1]) die Dauer der Adrenalinhyperglykämie nach subkutaner Injektion der Resorption parallel geht, so ließe die lange Wirkungsdauer einer solchen Injektion bei der Ziege auf eine sehr langsame Resorption schließen.

[1]) *L. A. Tatum*, Journ. of pharm. u. exper. Therap. 18, 121, 1921.

4. Insulinversuche.

Zuletzt wurde der Einfluß von Insulin studiert mit dem Ziele, den Grad von Hypoglykämie ausfindig zu machen, welcher von der ohnehin mit einem so niedrigen Blutzuckerspiegel ausgestatteten Ziege ohne Einsetzen von bedrohlichen Erscheinungen vertragen wird.

Dem jüngeren Tiere wurden etwa 70 Einheiten (da etwas Flüssigkeit durch Austreten aus der Injektionsstelle verloren ging, ist der Wert ungenau) Insulin „Phiag" subkutan injiziert und in 1½- bis 2stündigen Intervallen die Blutzuckersenkung verfolgt (Tabelle X bzw. Abb. 4). 8½ Stunden

Tabelle X.

Jüngere Ziege; Insulinversuch.

Tag	Tagesstunde	Leistung	mg Zucker in 100 ccm Blut
22. I.	9h	etwa 70 Einheiten Insulin „Phiag" subkutan	—
	10 30'		39
	12		38
	1 30		35
	3 30		35
	5 30		29
	7 30		32

nach der Injektion konnten als tiefster Wert 0,029 mg verzeichnet werden. Am Verhalten des Tieres fiel Bewegungsarmut auf; während es sich im Beginn der Insulinwirkung doch öfters legte, blieb es schließlich unbeweglich an einer Stelle stehen, wechselte nur selten den Standort, hielt den Kopf gesenkt, aber noch über der Horizontalen und zeigte geringere Freßlust, kurz, das Tier war träge geworden. Krämpfe waren nicht vorhanden. Um 7 Uhr abends, 10 Stunden nach der Injektion, wurde das Tier wieder lebhafter, als der Blutzucker wieder anstieg. Am nächsten Tage wurden 100 Einheiten Insulin verabreicht. Dieselbe Bewegungsarmut und Trägheit, wie am Tage vorher, setzte diesmal schon nach kürzerer Zeit ein; der Kopf sank langsam tiefer und tiefer, so daß schließlich die Schnauze den Boden berührte; es traten leichte Unruhe des Kopfes und Ptose der Lider (Schläfrigkeit?) auf. Bei diesem Zustand, 4 Stunden nach der Injektion, wurden 17 mg Blutzucker gefunden. 1½ Stunden später: Das Tier hatte jede Freßlust, selbst für Hafer verloren, legte sich trotz der sichtlichen Schwäche nicht nieder, ebensowenig wie früher, und sank schließlich viermal in die Hinterbeine ein, vermochte sich aber immer wieder zu erheben. Beim fünften Male brach es endlich vollständig nieder. Es legte den Kopf zurück auf die Brustwand, etwa so, wie Vögel zu schlafen pflegen. Diese Haltung wurde krampfhaft festgehalten; beim Versuch, den Hals gerade zu richten, federte er förmlich in seine frühere Lage zurück. Die Pupillen wurden eng, das Tier komatös. Der Blutzuckergehalt betrug in diesem Stadium 18 mg. Bald darauf stellten sich tickartige Zuckungen zuerst in einem, dann in beiden Oliven ein, schließlich Krämpfe in Form von Laufbewegungen des auf der Seite liegenden Tieres. Auch kurzdauernden Nystagmus habe ich bei ihm einmal beobachtet.

Um das Tier am Leben zu erhalten, verabreichte ich Adrenalin und wiederholte intravenöse Traubenzuckerinjektionen (im ganzen 15 g Glykose in 10proz. Lösung), die letzten 12 Stunden nach der Insulininjektion, als sich

neuerlich Krämpfe einstellten. Etwa ½ Minute nach jeder Glykoseinjektion sprang das Tier auf, gebärdete sich völlig normal und fraß gierig den vorgehaltenen Hafer. Nach etwa ½ Stunde wurde es wieder lethargisch und von Krämpfen befallen.

Tabelle XI.

Jüngere Ziege; Insulinversuch.

Tag	Tagesstunde	Leistung	mg Zucker in 100 ccm Blut
23. I.	9h	100 Einheiten Insulin „Phiag“ subkutan	—
	11		24
	1		17
	2 45′	das Tier bricht zusammen	18

Das Tier blieb am Leben und hatte am nächsten Tage um 11 Uhr vormittags 137 mg Zucker in dem aus dem Ohre entnommenen Blute. Dieser auffallend hohe Wert bedarf, obwohl die Kontrollprobe dasselbe Resultat gab, der Nachprüfung, da er vielleicht durch Einströmen von Glykose aus den tags vorher durch die Traubenzuckerinfusion allfällig gesetzten subkutanen Depots verschuldet wurde, bevor er wirklich als Zeichen von Hyperglykämie gewertet werden könnte.

Das Ergebnis der Insulinversuche ist, daß die Ziege verhältnismäßig hohe Insulindosen, desgleichen eine weitgehende Erniedrigung des Blutzuckerspiegels auf 24 mg in 100 ccm Blut, ja selbst 17 mg verhältnismäßig gut vertrug. Auffällig ist, daß erst nach etwa zweistündigem Bestehen dieses niedrigen Wertes Kollaps und Krämpfe auftraten[1]). Für das Kaninchen, das Testobjekt für Insulin, werden als kritischer Wert für das Auftreten von Krämpfen 45 mg Zucker im Blute angegeben. *Bodansky*[2]) sah Schafe bei einem Blutzuckergehalt von 0,030 Proz. krampffrei bleiben.

Zusammenfassung.

1. Unter normalen Ernährungsbedingungen wurden bei zwei klinisch normalen Ziegen Blutzuckerwerte zwischen 49 und 60 bzw. 52 bis 64 mg in 100 ccm Blut gefunden, also im Verhältnis zu anderen Tieren und dem Menschen niedrige Werte. Der Blutzucker wies sowohl im Verlauf eines und desselben Tages als auch an verschiedenen Tagen nur geringe Schwankungen auf.

2. Nach zweitägigem, nicht absolutem Hunger sank der Blutzucker bei einer Ziege auf 41 mg, während der durchschnittliche Zuckergehalt des Blutes des gleichen Tieres an den Normaltagen 52 mg, der tiefste Wert an diesen Tagen 49 mg betrug.

3. Nach einstündigem Laufen bis zur merklichen Ermüdung stieg der Blutzucker von 55 mg vor der Leistung auf 117 mg unmittelbar

[1]) Der Abfall des Blutzuckers scheint im Beginn der Insulinwirkung rascher erfolgt zu sein als später; leider wurde der Blutzuckerwert vor der Insulininjektion nicht bestimmt.

[2]) *Bodansky*, Proc. of the soc. f. exper. biol. a. med. **21**, 416, 1924.

nach Beendigung der Arbeit; der stärkste Abfall erfolgte eine halbe Stunde nach Arbeitsende; nach 2 Stunden war der Ausgangswert noch nicht erreicht.

4. Auf kleine Adrenalindosen, die keine sichtlichen Aufregungszustände schaffen (0,5 mg bei einem etwa 8 Monate alten Tiere), reagierte die Ziege bei Heu-Kleieernährung mit Hyperglykämie. Von seinem Anfangswert (59 mg) stieg der Blutzucker innerhalb der ersten halben Stunde an, erreichte langsam nach 4 Stunden seinen Höhepunkt (95 mg); die Steigerung betrug also 36 mg. 8 Stunden nach der Injektion war noch immer ein Plus von 18 mg über dem Ursprungswert zu verzeichnen. Die Adrenalinhyperglykämie zieht sich daher im Vergleich zum Menschen und Kaninchen, vorausgesetzt, daß im Verhältnis zum Körpergewicht annähernd gleiche Dosen verwendet werden, bedeutend in die Länge.

5. Nach Insulininjektion sank der Blutzucker auf sehr tiefe Werte, bis 17 mg, ohne daß sofort Kollaps auftrat; dieser stellte sich erst nach etwa 2 Stunden währendem Anhalten des niedrigen Blutzuckerspiegels ein. Bei einem durch Insulininjektion hervorgerufenen Blutzuckergehalt von 24 bis 29 mg war außer Bewegungsarmut nichts Besonderes im Verhalten der Ziege zu bemerken.

Über Sulfatase.

V. Mitteilung:

Tierische Sulfatase.

Von

C. Neuberg und E. Simon.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie und Biochemie in Berlin-Dahlem.)

Die Bedeutung der Ätherschwefelsäuren für den Stoffwechsel des Menschen und der Tiere ist bekannt. Es war daher von Interesse, daß für die Ätherschwefelsäuren jüngst ein Ferment aufgefunden worden ist, das ihrer Zerlegung dient. Die genannten wichtigen Naturprodukte sind äußerst beständige Körper. Die aromatischen Ätherschwefelsäuren widerstehen der Einwirkung siedender Alkalien und unterscheiden sich dadurch von der Mehrzahl der gewöhnlichen Ester. In neutraler Lösung sind sie vollkommen resistent und oft sogar in Gegenwart organischer Säuren. Fäulniserreger greifen die aromatischen Ätherschwefelsäuren kaum an. Trotzdem war zu erwarten, daß diese Verbindungen, die unter physiologischen Bedingungen gebildet werden, auch durch Fermente wieder spaltbar sein müßten.

Zunächst ist es *C. Neuberg* und *K. Kurono*[1]) gelungen, in Pilzen, und zwar im Aspergillus oryzae, ein Ferment aufzufinden, das die Phenolätherschwefelsäuren hydrolysiert. Beispielsweise wird phenolätherschwefelsaures Kalium durch ein aus dem genannten Erreger extrahierbares, wasserlösliches Enzym bei 37° und in Gegenwart eines Antiseptikums (Toluol) in Phenol und schwefelsaures Salz zerlegt. Das Ferment wird wegen seiner Schwefelsäure ablösenden Wirkung zweckmäßig als *Sulfatase* bezeichnet.

Über die Wirkungsweise der Pilz-sulfatase haben *C. Neuberg* und *K. Linhardt*[2]), ferner *J. Noguchi*[3]) verschiedenes Material beigebracht.

Von Belang schien weiterhin die Frage, ob nicht auch *im Tierkörper* ein Ferment anzutreffen ist, welches die Ätherschwefelsäuren

---

[1]) *C. Neuberg* und *K. Kurono*, diese Zeitschr. **140**, 295, 1923.
[2]) *C. Neuberg* und *K. Linhardt*, ebendaselbst **142**, 191, 1923.
[3]) *J. Noguchi*, ebendaselbst **143**, 186, 1923; **144**, 138, 1924.

zu hydrolysieren vermag. Hierüber ist bisher nichts bekannt geworden. Nach mannigfachen und vergeblichen Bemühungen ist es nun geglückt, die verhältnismäßig weite Verbreitung einer kräftigen *tierischen Sulfatase* darzutun. Es muß zunächst dahingestellt bleiben, ob es sich bei der in den verschiedenen animalischen Organen aufgefundenen Sulfatase stets um das gleiche Ferment handelt, was man für wahrscheinlich halten möchte, oder ob gewisse Organspezifitäten vorliegen, was nicht ohne weiteres von der Hand zu weisen ist. Die Tatsache, auf die noch zurückzukommen sein wird, daß die Organe unter einander eine verschiedene Spaltungskraft aufweisen, kann natürlich einfach mit einem wechselnden Gehalt der einzelnen Gewebe an dem Ferment zusammenhängen.

Über den Mechanismus der Ätherschwefelsäurebildung liegen eine Reihe von Untersuchungen vor, die darauf hindeuten, daß die Synthese in mehreren Organen zustande kommen kann, beispielsweise in der Leber und in der Muskulatur. Es schien uns selbstverständlich, an den Stätten der Bildung auch nach dem spaltenden Agens zu suchen. Tatsächlich fanden wir die Sulfatase an den beiden genannten Orten, aber ihr Vorkommen ist nicht auf diese Stellen beschränkt, sondern die Sulfatase ist auch in der Niere und im Gehirn zugegen. Andere Organe sind vorläufig nicht in den Kreis der Untersuchungen gezogen worden.

Zumeist sind wir derart vorgegangen, daß das zerkleinerte Organ mit einer 1 proz. Lösung des ätherschwefelsauren Salzes in Berührung gebracht und in Anwesenheit einer hinreichenden Menge von Toluol (1 bis 5 Proz.) bei 37° digeriert wurde. Bei den Versuchen war darauf Rücksicht zu nehmen, daß die in neutraler Lösung zwar beständigen aromatischen Ätherschwefelsäuren bei saurer Reaktion mit der Zeit einen Zerfall erleiden können. Da nun durch Digestion von Organen bei 37° auf autolytischem Wege Säure entsteht, mußte diese unschädlich gemacht werden. Das geschah in einfacher Weise durch Zugabe überschüssigen kohlensauren Kalks, der mit den Gewebsteilen als Bodenkörper in der Flüssigkeit ruhend, automatisch die Neutralisation jener Säuren bewirkt, die bei der Selbstverdauung gebildet werden. Zugleich neutralisiert das Calciumcarbonat aber auch die Schwefelsäure bzw. das Bisulfat, die bei der enzymatischen Spaltung der Äthersulfate ($R.O.SO_3K + H_2O = R.OH + KHSO_4$) selbst frei werden und die autokatalytisch einen unspezifischen Zerfall bewirken könnten. Zahlreiche Kontrollversuche haben darüber Aufschluß gegeben, daß ein solcher Zusatz von Calciumcarbonat jede Selbstzersetzung des Äthersulfats hintanhält. Zur Sicherheit wurden die Flaschen, in denen sich das Gemisch von Organ, kohlensaurem Kalk, ätherschwefelsaurem Salz und Toluol befand, mehrfach am Tage kräftig durchgeschüttelt.

Diese Anwendung eines Neutralisationsmittels, die durch die Eigenart der Äthersulfate im vorliegenden Falle geboten war, ist nun an sich nicht erwünscht; denn sie verlegt die Reaktion des Milieus in die Gegend des Neutralpunkts, der zweifelsohne kein Optimum für die Betätigung der Sulfatase darstellt. Pufferlösungen haben sich schon bei den einfacher liegenden Verhältnissen der Pilz-sulfatase nicht sonderlich bewährt, so daß wir den Nachteil in den Kauf genommen haben, der aus der Anwesenheit von Calciumcarbonat erwächst und darin beruht, daß die Hydrolyse nur allmählich eintritt und nicht immer bis zu Ende geht.

Weiter wurde ermittelt, daß die Spaltungskraft der Sulfatase vom mehr oder minder lang anhaltenden Überleben der Zellen nur wenig abhängig ist; denn auch *Trockenpräparate*, die durch Behandlung der Organe mit Alkohol und Äther gewonnen worden waren, erwiesen sich als wirksam, und das gleiche gilt für Zubereitungen, die durch Eintragen des frischen Organbreies in Aceton bereitet worden waren. Ein solches Fermentmaterial besteht aus einem trockenen, gelblichen Pulver, das die Äthersulfate kräftig hydrolysierte.

In den erwähnten Organpulvern ist die Sulfatase zusammen mit Gewebsbestandteilen durch das Entwässerungsmittel niedergeschlagen. Es handelt sich aber nicht etwa um ein „Endoenzym", sondern um ein lösliches Ferment; durch Extraktion von frischem Leberbrei mit Toluolwasser kann man nämlich eine Flüssigkeit erhalten, die durch Zentrifugieren von allen gröberen Organpartikeln getrennt werden kann und dabei zwar nicht völlig klar wird, aber sich als ebenso deutlich wirksam erwiesen hat, wie die Trockenpräparate. Nicht unerwähnt bleibe, daß bei allerdings nicht allzu reichlichen Versuchen mit Muskulatur dieses Verfahren nicht zum Ziel geführt hat; freilich ist dabei zu bedenken, daß der Muskel überhaupt sehr viel weniger Sulfatase enthält.

Alle Versuche, von denen im vorhergehenden die Rede ist, sind mit *Organen von Kaninchen* ausgeführt, doch haben wir uns davon überzeugt, daß auch Gewebe des *Meerschweinchens* sich ähnlich verhalten, und im hiesigen Institut ist inzwischen konstatiert worden, daß die Sulfatase in den Organen des *Menschen* gleichfalls vorhanden ist.

Als *Substrate* dienten phenolschwefelsaures Kalium und p-kresolschwefelsaures Kalium. Ein wesentlicher Unterschied in der Spaltbarkeit dieser Substanzen trat nicht zutage.

Zu dem *Methodischen*, dem wir uns jetzt zuwenden, sei folgendes bemerkt. Aus Gründen, die *C. Neuberg* und Mitarbeiter[1]) bereits bei den Untersuchungen über die Sulfatase der Pilze auseinandergesetzt

[1]) l. c.

haben, wurde die Bestimmung der Sulfatasewirkung so ausgeführt, daß nicht die abgespaltene Menge Schwefelsäure bestimmt, sondern der unzerlegt gebliebene Anteil des Äthersulfats ermittelt wurde. Dieses Vorgehen bietet verschiedene Vorteile. Zunächst entgehen keine Mengen abgespaltener Schwefelsäure der Analyse, was bei Gegenwart von Calciumcarbonat (siehe oben) infolge Ausfallens von Gips eintreten könnte. Sodann werden durch die notwendige Behandlung mit alkalischer Chlorbariumlösung (Gemisch von Bariumchlorid + Barytwasser) alle störenden Substanzen aus den Digeraten in befriedigender Weise entfernt. Phosphate, ein Teil der Eiweißkörper und dergleichen fallen zusammen mit dem Bariumsulfat aus. Kocht man dann das klare Filtrat mit Salzsäure, so wird nunmehr die restierende Ätherschwefelsäure gespalten; das frei werdende Bariumsulfat scheidet sich in grob kristallinischer, gut filtrierbarer Form ab und kann leicht zur Wägung gebracht werden.

Im einzelnen wurde folgendes Verfahren befolgt.

Als ätherschwefelsaure Salze wurden für die Spaltungsversuche das *phenolschwefelsaure* und *p-kresolschwefelsaure Kalium* verwendet.

Die Darstellung geschah nach *E. Czapek*[1]) in folgender Weise:

25 ccm wasserfreies Pyridin wurden mit 120 ccm über Chlorcalcium destillierten Chloroforms vermischt; dann ließen wir 13,5 g rektifizierter Chlorsulfonsäure unter dauerndem Rühren bei Eiskühlung allmählich zutropfen. Darauf ließen wir, gleichfalls unter Kühlung und Rühren, 12,5 g in wenig Pyridin gelöstes p-Kresol[2]) zufließen. Um den entstandenen Niederschlag von Pyridinsulfat in Lösung zu bringen, wurde das Reaktionsprodukt etwas erwärmt. Die Lösung wurde sodann in einen Destillierkolben übergeführt und das Chloroform unter vermindertem Drucke abgedampft. Der restierenden Flüssigkeit setzte man Kalilauge (1 : 1) unter Abkühlen zu, bis alles Pyridin frei gemacht war; die Beendigung der Operation war an dem Auftreten alkalischer Reaktion und einer rötlich-violetten Färbung deutlich zu erkennen. Nach Abdunstung des Pyridins in vacuo erfolgte Extraktion mit 90proz. Alkohol. Der Weingeist wurde verjagt: dabei schied sich das Salz in Gestalt tafelförmiger, perlmutterartig glänzender Kristalle ab. Zur Befreiung von anhaftenden Beimengungen wurden die Kristalle in wenig Wasser unter Erwärmen gelöst und das Gefäß augenblicklich in Eis gestellt. Nach sehr kurzer Zeit erstarrte die Lösung zu einer dicken Kristallmasse, die auf der Nutsche scharf abgesaugt und mit absolutem Alkohol nachgewaschen wurde. Nach mehrmaliger Wiederholung dieser Operation erhielt man eine vollkommen chlor- und sulfatfreie Substanz. Die in der Literatur vorgeschriebene Umkristallisation aus Alkohol erwies sich nicht als besonders günstig, da dieses Verfahren zur völligen Reinigung des Salzes sehr häufig wiederholt werden mußte und auf diese Weise Verluste verursachte.

Die Salze, die in braunen Pulverflaschen aufbewahrt wurden, waren längere Zeit hindurch haltbar. Vor Beginn jeder Versuchsreihe

[1]) *E. Czapek*, Monatsh. f. Chem. 35, 635, 1914.
[2]) Beim Phenol wurde entsprechend verfahren.

wurde geprüft, ob die Substanz noch den ursprünglichen Reinheitsgrad aufwies. Außerdem wurde die Verbindung nach jeder Neudarstellung einer genauen Analyse unterworfen.

Für die Fermentversuche diente stets eine 1 proz. Lösung der ätherschwefelsauren Salze. Neben den Ansätzen mit Organen wurde ein Teil der Salzlösung für sich allein unter sonst gleichen Bedingungen als Kontrolle aufgestellt. Während der Versuchsdauer blieben die rein wässerigen Lösungen der Äthersulfate stets unzersetzt; erst nach langen Zeiten, die nicht in Betracht kamen, traten Kennzeichen der Zersetzung auf.

Zur Wahrung der Sterilität wurde Toluol in Mengen von 1 bis 5 Proz. angewendet. Es erwies sich, daß die Spaltbarkeit der Substrate durch den Zusatz des Antiseptikums innerhalb der angegebenen Grenzen nicht vernichtet wurde.

Daß die bei der Autolyse entstehenden Säuren eine Zersetzung des Salzes herbeizuführen imstande sind, wurde durch folgenden Versuch ermittelt:

17,5 g Leberbrei, in 150 ccm Wasser suspendiert, wurden nach fünftägiger Autodigestion eine halbe Stunde lang im Wasserbade gekocht, sodann wurden 1,5 g phenolschwefelsauren Kaliums + 1,5 ccm Toluol hinzugefügt. Nach Verlauf von 5 Tagen konnte eine bis zu 4 Proz. gehende Spaltung festgestellt werden. Daher wurde bei allen Untersuchungen zur Bindung der entstehenden Säuren als Bodenkörper reines gefälltes Calciumcarbonat beigegeben.

Zur Sicherung der Befunde wurde daraufhin nachstehender Versuch unternommen:

20 g Muskelbrei, in 150 ccm Wasser aufgeschwemmt, wurden nach sechstägiger Autolyse mit 10 g Calciumcarbonat während 30 Minuten im Wasserbad gekocht; danach wurden 1,5 g Phenoläthersulfat sowie 1,5 ccm Toluol hinzugegeben. Fortlaufende Analysen erwiesen, daß das ätherschwefelsaure Salz jetzt nicht mehr gespalten wurde, da die Enzymkraft zerstört worden war und durch Zusatz des $CaCO_3$ alle entstehenden Säuren neutralisiert wurden.

Die Ansätze wurden während der Versuchsdauer im Brutschrank von 37° belassen.

Die Bestimmungen wurden folgendermaßen durchgeführt.

Unmittelbar nach dem Zusammenbringen der 1 proz. Lösung des ätherschwefelsauren Salzes mit den Organen wurden 10,0 ccm des Gemisches entnommen, in einen 50,0-ccm-Meßkolben hineinpipettiert, darauf mit 10,0 ccm alkalischer Chlorbariumlösung[1]) versetzt und auf

[1]) 1 Volumen 10 proz. Lösung von $BaCl_2$ + 2 Volumen gesättigten Barytwassers.

50,0 ccm aufgefüllt. Nach 24stündigem Stehen wurde durch ein trockenes Faltenfilter filtriert; 35,0 ccm wurden zur Analyse entnommen. Die Lösung wurde mit einer genügenden Menge verdünnter Salzsäure versetzt und zum Sieden erhitzt. Die Bestimmung des ausgeschiedenen Bariumsulfats geschah in der üblichen Weise.

Die tierischen Organe kamen in frischem Zustande, als Trockenpräparate und als wässerige Auszüge zur Verwendung.

1. Frische Organe.

Zur Untersuchung diente folgendes Fermentmaterial: Leber. Niere, Muskulatur und Gehirn. Die Organe wurden den durch Entblutung getöteten Tieren noch lebenswarm entnommen, mit der Schere sorgfältig zerkleinert und sodann mit einem Holzhammer zu einem homogenen Brei zerstampft. Je nach der vorhandenen Menge an Gewebe wurden 10 bis 25 g benutzt, Als Kontrolle diente die gleiche Quantität Organ mit Wasser allein; dabei konnte in keinem Falle festgestellt werden, daß infolge Autolyse organisch gebundene Schwefelsäure aus den Organen in die wässerige Lösung übergegangen war.

Tabelle I.

Organmenge g	1 proz. Lösung von ätherschwefelsaurem Salz ccm	Toluolmenge Proz.	Analyse nach Tagen	Als $BaSO_4$ bestimmtes Äthersulfat in 35 ccm Filtrat = 7,0 ccm Urlösung g	Spaltung Proz.
Leber	Phenolsalz	1	0	0,0650	—
25	150		3	0,0611	6,00
			6	0,0529	18,61
	Phenolsalz	5	0	0,0570	—
20	150		2	0,0507	11,05
			9	0,0508	10,90
Niere	Phenolsalz	1	0	0,0774	—
10	100		3	0,0716	7,49
			6	0,0685	11,50
	p-Kresolsalz	1	0	0,0677	—
	100		4	0,0624	7,83
			7	0,0593	12,41
			11	0,0591	12,70
Muskel	p-Kresolsalz	1	0	0,0644	—
20	150		4	0,0634	1,55
			7	0,0632	1,86
			11	0,0622	3,42
Gehirn	Phenolsalz	2	0	0,0607	—
10	100		2	0,0562	7,41
			9	0,0561	7,58

Aus den zahlreichen Versuchen seien zur Verdeutlichung folgende Protokolle angeführt.

a) 25 g Leberbrei, 1,5 g phenolätherschwefelsaures Salz, 150 ccm H_2O, 1,5 ccm Toluol, 10 g $CaCO_3$.

b) 25 g Leberbrei, 150 ccm H_2O, 1,5 ccm Toluol.

c) 0,5 g phenolätherschwefelsaures Salz, 50 ccm H_2O, 0,5 ccm Toluol.

Die tabellarische Übersicht lehrt, daß die Leber und Niere eine erhebliche Spaltungskraft aufweisen. Bei Gehirn blieb die Hydrolyse bei der einmal erreichten Stufe stehen; nach 10 bis 14 Tagen schritt die Zerlegung nicht weiter fort. Die Muskulatur zeigte ein geringes Zersetzungsvermögen.

Zur Sicherstellung der Ergebnisse wurden die Ansätze nach Beendigung der Versuche unter Zugabe von $CaCO_3$ und Talkum mit Wasserdampf destilliert. Es gelang in allen Fällen, im Destillat das Vorhandensein von freiem Phenol mittels *Millons* Reagenz oder Bromwasser nachzuweisen.

2. Trockenpräparate.

Zu Vorproben benutzten wir ein Trockenpräparat, das in Anlehnung an eine Vorschrift von *J. A. Smorodinzew*[1]) durch Behandlung der Organe mit Alkohol und darauffolgende Ätherextraktion im Soxhletapparat gewonnen worden war. Rascher zum Ziel führte ein von *R. Albert*, *E. Buchner* und *R. Rapp*[2]) für die Herstellung von Acetondauerhefe empfohlenes Verfahren, das ein gut wirksames Fermentmaterial lieferte. Die Bereitung geschah in folgender Weise:

Die fein zerschnittenen Gewebe wurden rasch in die etwa 7fache Menge reinen, frisch über Chlorcalcium destillierten Acetons unter dauerndem Umrühren eingetragen und alsdann 10 Minuten kräftig im Mörser verrieben. Darauf wurde abgesaugt und dieselbe Operation mit der dreifachen Menge Acetons noch zweimal je 3 Minuten wiederholt. Nach scharfem Abnutschen wurde das Gewebe in die dreifache Menge absoluten, zuvor über Natrium getrockneten Äthers eingetragen und einige Minuten gründlich verrührt. Das Material wurde wiederum auf die Nutsche gebracht, fest abgepreßt und darauf einige Stunden an der Luft auf Fließpapier getrocknet. Zur Entfernung des vorhandenen Bindegewebes wurde durch ein Haarsieb mittlerer Feinheit getrieben. Es resultierte ein hellgelbes, staubfeines Pulver dessen enzymatische Wirkung während längerer Zeit erhalten blieb.

In der oben beschriebenen Weise wurden Acetontrockenpräparate von Leber und Niere dargestellt. Die Versuche wurden unter den gleichen Bedingungen wie bei den frischen Organen angesetzt. Von den Acetonzubereitungen kamen 2,5 g auf 150,0 ccm der 1 proz.

[1]) *J. A. Smorodinzew*, H. **124**, 123, 1923.

[2]) *R. Albert, E. Buchner* und *R. Rapp*, Ber. **35**, 2376, 1902.

Lösung des ätherschwefelsauren Salzes zur Anwendung. Die Kontrollen waren ebenfalls dieselben. Die spaltende Wirkung der festen Organsulfatase ergibt sich aus Tabelle II.

Tabelle II.

Organmenge	1 proz. Lösung von ätherschwefelsaurem Salz	Toluolmenge	Analyse nach Tagen	Als $BaSO_4$ bestimmtes Äthersulfat in 35 ccm Filtrat = 7,0 ccm Urlösung	Spaltung
g	ccm	Proz.		g	Proz.
Acetonleber	Phenolsalz	1	0	0,0732	—
2,5	150		4	0,0698	4,64
			7	0,0676	7,65
			11	0,0678	7,60
Acetonniere	Phenolsalz	1	0	0,0723	—
2,5	150		3	0,0699	3,32
			6	0,0684	5,39
			10	0,0664	8,16

Die Trockenpulver zeigen gegenüber den frischen Organen kaum eine schwächere Wirksamkeit, wenn man die Trockensubstanz des Fermentmaterials in Betracht zieht.

3. Wässerige Extrakte.

Zur Bereitung der wässerigen Auszüge wurde folgendermaßen verfahren:

50 g Organbrei wurden mit dem doppelten Volumen Wasser unter Zusatz von 1 Proz. des Flüssigkeitsquantums an Toluol in einer Pulverflasche während 6 Stunden bei Zimmertemperatur ausgelaugt. Die Trennung von den groben Partikeln geschah durch Zentrifugieren. 100 ccm der etwas trüben Lösung wurden mit 1,5 g Phenolsalz versetzt und die Versuche in der gewohnten Weise ausgeführt. Zur Verwendung gelangten wässerige Extrakte von Muskulatur und Leberbrei.

Die Fermentwirkung ist aus Tabelle III ersichtlich.

Tabelle III.

Organ	Ätherschwefelsaures Salz	Toluolmenge	Analyse nach Tagen	Als $BaSO_4$ bestimmtes Äthersulfat in 35 ccm Filtrat = 7,0 ccm Urlösung	Spaltung
		Proz.		g	Proz.
Lebersaft	Phenolsalz	1	0	0,1066	—
			3	0,0982	7,88
			6	0,0981	7,97
			9	0,0981	7,97
Muskelsaft	Phenolsalz	1	0	0,0771	zwischen 0,4 u. 0,65
			4	0,0768	
			7	0,0766	
			11	0,0768	

Der Muskelsaft zeigt, entsprechend der geringen Wirkung der frischen Muskulatur, kein nennenswertes Spaltungsvermögen.

Auf die verschiedensten Weisen ist somit das Vorkommen des neuen Ferments Sulfatase auch in tierischen Organen dargetan worden. Für Naturstoffe bedeutet nun der Nachweis eines Ferments, das sie angreift, eine besondere Kennzeichnung. Sie drückt aus, daß jene Materialien keinen ruhenden Ballast darstellen, sondern Anteil am schaffenden Stoffwechsel haben, in welchem sie gebildet und auch wieder verbraucht werden.

Zur Kenntnis der biochemischen Acyloinsynthese.

VIII. Mitteilung über Carboligase.

Von

C. Neuberg und **E. Simon.**

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie und Biochemie in Berlin-Dahlem.)

Die Auffindung der *Carboligase* hat sich als eine wichtige Erkenntnis auf dem Gebiete des Zellstoffwechsels erwiesen; denn mit Hilfe des Carboligase genannten Ferments ist zum erstenmal die rein enzymatische Umkehrung von Prozessen, die mit Kohlenstoffketten-zerreißung einhergehen, in die Richtung des Wiederaufbaues solcher Kohlenstoffketten erzielt worden.

Eine besondere Bedeutung erhält dieser biologische Vorgang dadurch, daß er sich in der Zuckerreihe abspielt, indem er Gärung, das ist Kohlenstoffkettenverkürzung, und Kernsynthese verknüpft.

Dabei hat es sich herausgestellt, daß man nicht, wie es in unseren ersten Versuchen geschehen ist, spezielle Aldehyde zu einer in alkoholischer Gärung befindlichen Zuckerlösung zu fügen braucht, um die carboligatische Synthese, die formale Vereinigung des zugegebenen fremden Aldehyds mit dem bei der Gärung entstehenden Acetaldehyd zum entsprechenden gemischten Acyloin, zu erreichen: $R.CHO + HOC.R_1 = R.CHOH.CO.R_1$. Es genügt vielmehr, in geeigneter Weise jene Substanzen zusammenzubringen, die wir heute als biochemische Abbauprodukte des Zuckers zu betrachten haben. In einer langen Reihe von Untersuchungen, die mit Hilfe der *Abfangverfahren* ausgeführt sind, ist gezeigt worden, daß sich bei der Zerlegung des Zuckers durch Hefearten (*Neuberg*, *Färber*, *Reinfurth*, *Hirsch* und *Kumagawa*), durch diverse Pilze (*Neuberg* und *Cohen*) und Bakterien (*Neuberg*, *Nord*, *Arinstein*, *Cohn* und *Nagai*), durch höhere Pflanzenzellen (*Neuberg* und *Gottschalk*) sowie durch tierische Gewebe (*Neuberg* und *Gottschalk*) Acetaldehyd, das sonst flüchtig durcheilte Zwischenglied, ansammeln läßt. Daraus leitet man die Berechtigung her, den Acetaldehyd als ein Erzeugnis der physiologischen Spaltung von Kohlenhydraten zu betrachten.

Fügt man nun dieses normale Zerfallsprodukt Acetaldehyd zu einer in Gärung befindlichen Zuckerlösung, so erzielt man die über-

raschende Wirkung, daß durch Beigabe größerer Mengen der Durchgangsstufe der Weg des Abbaues verlassen wird und die Resynthese erfolgt. So können bis 100 Proz. vom zugesetzten Acetaldehyd zu Acetoin umgewandelt werden: $CH_3 . CHO + OHC . CH_3 = CH_3 . CHOH . CO . CH_3$. Es entsteht ein Stoff, der bei der normalen alkoholischen Zuckerspaltung niemals auftritt. Der zugesetzte Acetaldehyd wirkt als Abfangmittel für den beim Zuckerzerfall im status nascens verfügbar werdenden Acetaldehyd. In ähnlicher Weise vermag man darzutun, daß bei der Vergärung von Brenztraubensäure der zunächst durch carboxylatische Spaltung frei gewordene Acetaldehyd mit nachgebildetem „Acetaldehyd" reagiert und durch die carboligatische Synthese zu Acyloin wird; hier führt in durchsichtiger Weise ein Weg von der 3-Kohlenstoffreihe zu 4-Kohlenstoffkörpern. Weiter ist offenbar geworden, daß Beimischung von fertigem Acetaldehyd zu vergärender Brenztraubensäure die Acyloinsynthese verstärkt; die Ausbeuten an Acetoin steigen.

Es erhob sich nun die grundsätzlich wichtige Frage: Handelt es sich bei diesen carboligatischen Synthesen um eine einfache acyloinmäßige Verknüpfung der beiden Aldehyd-anteile zum Acetoin, oder muß mindestens die eine Komponente im naszierenden Stadium zugegen sein? Einige Beobachtungen, die in früheren Arbeiten von *C. Neuberg* und seinen Mitarbeitern[1]) niedergelegt worden sind, sprechen bereits für die letztgenannte Auffassung, aber der zwingende Beweis für deren Richtigkeit stand aus; denn auch beim Zusammenbringen von verdünnten Acetaldehydlösungen mit gewöhnlicher Hefe erhält man manchmal Acetoin. Dabei war natürlich die Möglichkeit vorhanden, daß das Hefeglykogen oder auch andere nach Verzuckerung vergärbare Kohlenhydrate den für die carboligatische Synthese erforderlichen Acetaldehyd im Entstehungszustande liefern würden. Falls also die Carboligase befähigt wäre, unmittelbar 2 Moleküle Acetaldehyd zum Acetoin zusammenzuschließen, so müßte ein geeignetes Fermentmaterial zur Erzeugung des Acyloins imstande sein, wenn es in eine Lösung reinen Acetaldehyds von solcher Konzentration hineingebracht wird, in der bei Zuckergegenwart sich sonst die carboligatische Synthese verbürgtermaßen vollzieht. Die Aufgabe bestand darin, ein Hefepräparat zu benutzen, das enzymatisch wirksam ist, aber keine Kohlenhydrate enthält, die

[1]) *C. Neuberg* und *J. Hirsch*, diese Zeitschr. **115**, 282, 1921; *C. Neuberg* und *L. Liebermann*, ebendaselbst **121**, 311, 1921; *C. Neuberg* und *H. Ohle*, ebendaselbst **127**, 327, 1922; **128**, 610, 1922; *J. Hirsch*, ebendaselbst **131**, 178, 1922; *C. Neuberg* und *A. v. May*, ebendaselbst **140**, 299, 1923; *C. Neuberg* und *E. Reinfurth*, ebendaselbst **143**, 553, 1923; *C. Neuberg* und *O. Rosenthal*, Ber. **57**, 1436, 1924. Siehe auch *C. Neuberg*, die deutsche Zuckerindustrie **49**, 1054, 1924.

zum Auftreten von naszierendem Acetaldehyd durch einen abbauenden Gärungsvorgang Anlaß geben.

Es liegen nun Erfahrungen von *W. Henneberg*[1]) sowie *E. Buchner* und *S. Mitscherlich*[2]) vor, daß man Hefe durch längere Digestion mit Wasser bei 37° von vorhandenen Kohlenhydraten befreien kann. Um diese Vorbehandlung nicht gar zu sehr auszudehnen und dadurch die Hefe weitgehend zu schwächen, muß man ein Material nehmen, das von vornherein glykogenarm ist. Als eine geeignete Hefensorte erwies sich die Hefe der Engelhardt-Brauerei; der Direktion der Engelhardt-Brauerei sei an dieser Stelle für ihr Entgegenkommen vielmals gedankt.

Nach der Aufbewahrung der Hefe in Wasser bei der angegebenen Temperatur saugt man ab und wäscht gründlich aus. Man muß sich natürlich davon überzeugen, daß diese Hefe keine Selbstgärung mehr aufweist, aber noch ein hinreichendes Vermögen zur Zuckerspaltung besitzt, obzwar die Gärkraft im Vergleich mit dem Ausgangsmaterial vermindert sein kann.

Mit so vorbereitetem Material wurden Versuche angestellt, von denen zwei des genaueren beschrieben werden sollen.

Darstellung der glykogenfreien Hefe.

500 g frischer, abgepreßter Hefe wurden portionsweise in 4 Liter Wasser von 40° eingetragen und unter vielfachem Umrühren 12 Stunden im Brutschrank bei 37° belassen. Am anderen Tage wurde scharf abgesaugt und mehrmals mit kaltem Wasser ausgewaschen.

Versuch A.

1. 25,0 g Rohrzucker wurden in 250 ccm Wasser gelöst und mit 10 g der glykogenfreien Hefe zur Angärung gebracht. Dann, d. h. nach 30 Minuten, wurden 50,0 ccm 10proz. Acetaldehydlösung hinzugesetzt. Nach 3 und 5 Tagen wurden noch jeweils 20 g ebenso vorbehandelter Hefe zugegeben. Nach zehntägigem Verweilen bei Zimmertemperatur wurde das gesamte Gärgut filtriert und das Filtrat nach einer Vorschrift von *M. Lemoigne*[3]) im hohen Vakuum destilliert. Die Destillation wurde unter öfterem Aufnehmen des Rückstandes mit Wasser so lange fortgesetzt, als im Übergegangenen noch Reduktion mit *Fehling*scher Mischung wahrzunehmen war. Das gebildete Acetoin, das mit alkalischer Kupferlösung schon in der Kälte reagiert und Linksdrehung aufweist, war dann vollkommen übergetrieben. Durch Einwirkung von 10 g p-Nitrophenylhydrazin in essigsauer-alkoholischer Lösung wurde das p-Nitrophenylosazon des Acetoins erhalten. Nach dem Zusatz des Reagens wurde die Flüssigkeit

---

[1]) *W. Henneberg*, Wochenschr. f. Brauerei **19**, **651**, **1902**.
[2]) *E. Buchner* und *S. Mitscherlich*, H. **42**, **554**, **1904**.
[3]) *M. Lemoigne*, Ann. de l'Inst. Pasteur **27**, **856**, **1913**.

2½ Stunden im siedenden Kochsalzbade gekocht. Der in roten Flocken ausgefallene Niederschlag wurde abgesaugt, mit verdünnter Essigsäure sowie Alkohol ausgewaschen und darauf noch mit Alkohol am Rückflußkühler ausgekocht, wiederum abgesaugt und mit heißem Alkohol ausgewaschen. Die Rohausbeute des im Vakuumexsikkator getrockneten Osazons betrug 4,3 g; der Schmelzpunkt war 307 bis 308°.

Zur Analyse wurde die Substanz aus Benzonitril umkristallisiert; ihr Schmelzpunkt lag dann bei 314°; die Stickstoffbestimmung zeigte das Vorliegen des Acetoinderivats an.

0,0992 g Substanz: 20,6 ccm N_2 (752 mm, 23°, 50 Proz. KOH).
$C_{16}H_{16}N_6O_4$: Ber. N = 23,60 Proz.; gef. N = 23,71 Proz.

2. Im Gegenversuch wurden gleichzeitig 10 g ebenso vorbehandelter Hefe in 250,0 ccm Wasser suspendiert und nach einer halben Stunde gleichfalls mit 50,0 ccm 10proz. Acetaldehydlösung versetzt. Nach zehntägiger Aufbewahrung konnte der Acetaldehydgeruch noch deutlich wahrgenommen werden, während dieser im Zuckeransatz schon nach kurzer Zeit verschwunden gewesen war. Die Aufarbeitung geschah wie bei 1. Es konnte keine Spur von Acetoin-osazon erhalten werden. Es hinterblieb lediglich ein braun gefärbter geringer Rückstand, der keinen Schmelzpunkt zeigte.

Versuch B.

1. Ein entsprechendes Ergebnis hatte ein Versuch, der mit Traubenzucker angestellt wurde. Außer den anfänglich verwendeten 20 g Hefe wurden nach 2 Tagen noch 20 g und nach 5 Tagen 50 g Hefe zugegeben. Nach 10 Tagen war noch unvergorene Glucose vorhanden. Die Aufarbeitung erfolgte derart, daß das Gärgut zentrifugiert und wie bei A. 1. nach der Vakuumdestillation mit einer essigsauer-alkoholischen Lösung von p-Nitrophenylhydrazin gekocht wurde. Es resultierten 2,7 g p-Nitrophenylosazon vom Schmelzpunkt 309°. Zur Analyse wurde die Substanz aus Pyridin und Eisessig umkristallisiert; sie zeigte dann den richtigen Schmelzpunkt von 316°. Die Analyse ergab folgenden Wert:

0,1042 g Substanz: 21,4 ccm N_2 (755 mm, 21°, 50 Proz. KOH).
$C_{16}H_{16}N_6O_4$: Ber. N = 23,60 Proz.; gef. N = 23,69 Proz.

2. Im Kontrollversuch, der wie bei A. 2. vorgenommen und aufgearbeitet worden war, konnte wiederum keine Spur von Acetoin nachgewiesen werden. Es entstand nur ein geringfügiger brauner, unschmelzbarer Niederschlag, der wahrscheinlich ein Verharzungsprodukt des angewendeten Reagens darstellt und auch Eiweiß einschloß.

Aus den mitgeteilten Daten ergibt sich, daß Zucker für diesen Eintritt der carboligatischen Synthese erforderlich ist. Es ist der

naszierende Acetaldehyd, der sich mit vorgebildetem Acetaldehyd zum Acetoin zusammenschließt. Ob dabei der naszierende Acetaldehyd durch Spaltung von wahrem Zucker oder durch Zerlegung seines Abbauprodukts Brenztraubensäure entsteht, ist für den Erfolg der carboligatischen Synthese gleichgültig. Es soll in diesem Zusammenhange darauf hingewiesen werden, daß auch aus anderen Quellen hervorgehender Acetaldehyd für die carboligatische Synthese in Betracht kommt, beispielsweise der bei der Vergärung von Oxalessigsäure hervorgebrachte Aldehyd, wie jüngst *C. Neuberg* und *G. Gorr*[1]) beschrieben haben.

Schon wiederholt haben wir betont, daß es sich bei dem carboligatischen Wiederaufbau gewissermaßen um eine unvollkommene biochemische Rekonstruktion von Kohlenhydrat handelt. Acetoin ist Dimethyl-glykolaldehyd; es kann auch als eine zweifach desoxydierte Tetrose aufgefaßt werden. Ähnlich wie in *O. Meyerhofs* Versuchen die physiologische Restitution der Milchsäure in Kohlenhydrat von der Zersetzung (Verbrennung) eines bestimmten Kohlenhydratanteils abhängt, ist hier die rückläufige Acetaldehydumwandlung, die carboligatische Synthese, an den Zerfall des Zuckers oder der ihm gleichwertigen Brenztraubensäure geknüpft. Die carboligatische Synthese ist der einfachste Fall der gekoppelten Resynthese.

Zugleich werfen unsere Beobachtungen ein neues Licht auf den oft in der Gärungschemie hervorgehobenen besonderen Zustand einer im physiologischen Geschehen entstehenden Substanz. Mag die Brenztraubensäure als Enolgebilde ($CH_2:COH.COOH$) oder als Anhydrid ihres Hydrats, $CH_3.C(OH).CO$ (mit O-Brücke zwischen C(OH) und CO), reagieren, mag der Acetaldehyd intermediär in Gestalt des Vinylalkohols, $CH_2:CH.OH$, auftreten, in diesen und ähnlichen Fällen sind eigenartige Reaktionsbedingungen in Betracht zu ziehen.

Die Formen mit doppelter Bindung, die eine für chemische Begriffe aufgelockerte Stelle im Molekül enthalten, sind auch für die biologischen Oxydationen zu berücksichtigen. Die sichere Kenntnis derselben reicht bisher nur zum Acetaldehyd und bis zur Essigsäure. Für letztere ist gleichfalls eine ungesättigte Nebenform $CH_2:C(OH)_2$, d. h. das Ketenhydrat, denkbar, wie sie für die Erklärung[2]) verschiedener Umsetzungen von *Nef, Claisen, Michael* u. a., ferner neuerdings von *A. McKenzie* und *S. T Widdows*[3]) sowie von *H. Scheibler* und *H. Ziegner*[4]) aufgestellt ist. Man wird mit solchen passageren Gebilden rechnen dürfen.

---

[1]) *C. Neuberg* und *G. Gorr*, diese Zeitschr. **154**, **495**, **1924**.

[2]) Literatur s. *Victor Meyer-Jacobson*, **1**, **2**, S. **1109**, **1913**.

[3]) *A. McKenzie* und *S. T. Widdows*, Journ. chem. Soc. London **107**, 702, 1915.

[4]) *H. Scheibler* und *H. Ziegner*, Ber. **55**, 789, 1922.

Erfahrungen mit dem neuen Hämoglobinometer.

Von

K. Bürker (Gießen).

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Gießen.)

(Eingegangen am 5. Februar 1925.)

Das im vergangenen Jahre beschriebene Hämoglobinometer[1]), ein Eintauchkolorimeter mit völlig symmetrischem Strahlengang und mit einer Lösung reduzierten Hämoglobins als Vergleichslösung, hat seitdem eine ziemliche Verbreitung gefunden. Über einige Erfahrungen, die mit dem Apparat gesammelt werden konnten, soll im folgenden berichtet werden.

Wenn der Apparat, der beigegebenen Gebrauchsanweisung zufolge, richtig justiert und beleuchtet ist, dann sollten bei Einstellung auf Farbengleichheit die beiden durch das Okular zu betrachtenden, nur durch eine feine Linie voneinander getrennten Farbenfelder in ihrer ganzen Ausdehnung völlig gleich erscheinen. Bei einigen Apparaten zeigte sich nun, daß das rechte Feld an der Grenze nach dem linken hin etwas ungleich war. Die genauere Prüfung ergab, daß in diesen Fällen der *Albrecht-Hüfnersche Glaskörper* etwas zu schmal geraten war. Da im unteren Teile des Apparats die optischen Achsen rechts und links 2,00 cm voneinander entfernt sind, so sollte der Glaskörper mindestens 2,40 cm breit sein, dann schwinden auch die Störungen.

Manchen Untersuchern hat die gleichmäßige *Beleuchtung des Apparats* Schwierigkeiten bereitet. Diese bestehen aber eigentlich nur bei sehr wechselnder Tagesbeleuchtung. In solchen Fällen kann man sich aber helfen, indem man statt des Spiegels die Mattscheibe verwendet oder bei künstlichem Lichte untersucht, was bei der völligen Identität der Vergleichsfarbe mit der durch Verdünnung und Reduktion des Blutes erzielten Farbe zulässig ist. Daß man eine stärkere Plasmafarbe (Ikterus, perniziöse Anämie) leicht kompensieren kann, indem man etwas Plasma in den Eintauchbecher mit der Sodalösung bringt, wurde schon in der Originalarbeit S. 283 erwähnt. Um von eventuellen

---

[1]) Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **203**, 274, 1924.

Schwankungen der Beleuchtung ganz unabhängig zu sein, wird gegenwärtig eine Beleuchtungsvorrichtung erprobt, welche an Stelle des Spiegels in den Fuß des Stativs eingesteckt werden kann.

Die *Haltbarkeit der Vergleichslösung*, also der im Glasgefäß von 1 cm Schichtendicke untergebrachten Lösung reduzierten Hämoglobins, ist eine erstaunliche, sofern jeder Zutritt von Luft bzw. Sauerstoff verhindert wird. Die Erfüllung dieser Bedingung ist aber sehr schwierig, die Schichtendicke muß genau definiert sein, Kitt darf, wenigstens zwischen Glasring und Deckplatten, nicht verwendet werden. Es ist schließlich dem Betriebsleiter der Optischen Werke *E. Leitz* in Wetzlar, Herrn *Bauer*, gelungen, durch starken Druck die Dichtung zu erzielen. Kamen bisher Gefäße zurück, in denen eine Farbenänderung eingetreten war, so zeigte sich stets ein Sprung im Glase, der dem Sauerstoff den Zutritt ermöglicht hatte.

Das zur Reduktion des 100fach verdünnten Blutes verwendete *Natriumhydrosulfit*, $Na_2S_2O_4$, ist in reinem Zustande ein ausgezeichnetes Reduktionsmittel, das von der Badischen Anilin- und Sodafabrik in Ludwigshafen a. Rhein hergestellt wird und von der Chemischen Fabrik *E. Merck* in Darmstadt bezogen werden kann. Ein im Besitz des Verfassers befindliches Präparat aus dem Jahre 1917 reduziert noch sehr gut, obwohl es im braunen Pulverglase ohne weitere besondere Vorsicht aufgehoben wurde. In der letzten Zeit kamen vereinzelt Reklamationen, das dem Apparat beigegebene Präparat reduziere nicht genügend. Es könnte sein, daß in diesen Fällen das Präparat der Feuchtigkeit ausgesetzt wurde, die nach Angabe der Fabrik der größte Feind des Präparats ist. Zur Prüfung auf Wirksamkeit bringt man einige Kubikzentimeter Indigolösung, die nicht zu stark blau gefärbt sein soll, in ein Reagenzglas und setzt eine stecknadelkopfgroße Portion $Na_2S_2O_4$ zu, worauf nach Mischung sofort Entfärbung eintreten und längere Zeit anhalten muß. Daß man unnötige Bewegungen der Glasstäbe in der reduzierten Blutlösung bei der Einstellung auf Farbengleichheit vermeiden, besonders aber ein völliges Herausnehmen und Wiedereintauchen der Stäbe unterlassen muß, ist klar, sonst preßt man unnötigerweise Sauerstoff in die Lösung.

Die Bestimmungen sind, wie vielfältige Erfahrungen ergeben haben, leicht bis auf 1 Proz. genau durchzuführen, und zwar sowohl bei kleineren als bei größeren Schichtendicken; bei kleineren Schichtendicken muß man dann nur auf $^1/_{20}$ mm genau ablesen, was ja auch mit dem Zehnernonius möglich ist. Der für jede andere Kolorimetrie brauchbare Apparat ist auch sehr geeignet, um die Gültigkeit des *Weber*schen sinnesphysiologischen Gesetzes auf optischem Gebiete zu demonstrieren.

Biochemische Zeitschrift

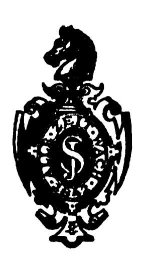
herausgegeben von

C. Neuberg-Berlin

Hundertsechsundfünfzigster Band

Fünftes bis sechstes Heft

Ausgegeben am 21. März 1925



Berlin

Verlag von Julius Springer

1925

Die

Biochemische Zeitschrift

erscheint zwanglos in Heften, die in kurzer Folge zur Ausgabe gelangen; je sechs Hefte bilden einen Band.

In der Regel können Originalarbeiten nur Aufnahme finden, wenn sie nicht mehr als 1½ Druckbogen umfassen. Sie werden mit dem Datum des Eingangs versehen und der Reihe nach veröffentlicht, sofern die Verfasser die Korrekturen rechtzeitig erledigen. — Mitteilungen polemischen Inhalts werden nur dann zugelassen, wenn sie eine tatsächliche Richtigstellung enthalten und höchstens zwei Druckseiten einnehmen.

Manuskriptsendungen sind an den Herausgeber, Herrn Prof. Dr. C. Neuberg, Berlin-Dahlem, Hittorfstr. 18, zu richten.

Die Verfasser erhalten bis 100 Sonderabdrucke ihrer Abhandlungen kostenfrei bis zu einem Umfang von 1½ Druckbogen, von größeren Arbeiten nur bis 75. Doch bittet der Verlag, nur die zur tatsächlichen Verwendung benötigten Exemplare zu bestellen. Über die Freiexemplare hinaus bestellte Sonderdrucke werden berechnet. Die Herren Mitarbeiter werden jedoch in ihrem eigenen Interesse dringend gebeten, sich, wenn irgend möglich, mit der kostenfrei zur Verfügung gestellten Anzahl zu begnügen, und falls mehr Exemplare unbedingt erforderlich sind, deren Kosten vorher vom Verlage zu erfragen, um unliebsame Überraschungen zu vermeiden.

Verlagsbuchhandlung Julius Springer
Berlin W 9, Linkstraße 23/24.

156. Band. Inhaltsverzeichnis. Heft 5/6.

Fortsetzung des Inhaltsverzeichnisses siehe 3. Umschlagseite

Der Einfluß der doppelseitigen Durchschneidung des Nervus splanchnicus auf den respiratorischen Umsatz des Hundes.

Von

Kimio Nakayama.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Bern.)

(Eingegangen am 8. Januar 1925.)

Unsere Kenntnis von dem Funktionieren der autonomen Organe in der relativen Unabhängigkeit von ihrer Innervation durch das Zentralnervensystem ruht auf einer breiten und gesicherten Grundlage. Das darf aber nicht verhindern, dem Einfluß der tatsächlich vorhandenen Innervation nachzugehen, eine Forderung, die allerdings gelegentlich etwas vernachlässigt worden ist. Die Studien des Berner physiologischen Instituts haben mehrfach dazu beigetragen, den Einfluß auf autonome, namentlich drüsige Organe klarzulegen. Die nachfolgende Arbeit, entstanden auf Anregung von Prof. *Asher*, befaßt sich gleichfalls mit der Frage des Einflusses des Nervensystems auf die funktionellen Vorgänge autonomer Organe, und zwar insbesondere mit der Frage des Einflusses des Nervus splanchnicus. Hierzu sollte ein Verfahren dienen, welches speziell für diese Fragestellung noch nicht Anwendung gefunden hat, nämlich die Verfolgung des respiratorischen Umsatzes von Hunden vor und nach der Entfernung der beiden Nervi splanchnici. Dieses Verfahren kann aber erst seine wahre Bedeutung gewinnen. wenn es kombiniert wird mit anderen Eingriffen. Deshalb habe ich mich nicht bloß mit der Untersuchung des Grundumsatzes an sich begnügt, sondern habe auch die im Versuch stehenden Tiere mannigfachen Eingriffen unterzogen, deren Einfluß auf den normalen Stoffwechsel bekannt ist.

Untersuchungen am Hunde mit Beraubung der beiden Nervi splanchnici geben auch eine willkommene Veranlassung zu einem viel diskutierten Problem der antagonistischen Nerven Stellung zu nehmen. Zwar hat man durch doppelseitige Exstirpation der beiden Nervi splanchnici durchaus nicht die gesamte sympathische Innervation der Bauchhöhle beseitigt, denn es bleibt ja noch der ganze Bauchsympathicus erhalten, immerhin muß aber daran gedacht werden, ob nicht die Entfernung der beiden wichtigsten sympathischen Nerven der Bauchhöhle ein Überwiegen des Vagus in der Bauchhöhle zur Folge hat, d. h. ob nicht die Möglichkeit vorliegt, daß Hunden, bei denen man beide Nervi splanchnici durchschnitten hat, experimentell in den Zustand der sogenannten Vagotomie versetzt worden seien.

Auch einen anderen Gesichtspunkt habe ich in den Bereich meiner Untersuchungen gezogen. Von denjenigen Organen, welche vom Nervus splanchnicus und Nervus vagus in der Bauchhöhle innerviert werden, ist wohl, stoffwechselphysiologisch betrachtet, das Bedeutsamste die Leber. Deshalb habe ich mein Augenmerk darauf gerichtet, ob nicht in meinen Untersuchungen Erscheinungen auftreten, welche darauf hindeuten, daß entweder der Einfluß des Verlustes der Splanchnicusinnervation der Leber oder des Überwiegens der Vagusinnervation der Leber hierin zum Vorschein kommen.

Zu meinen Untersuchungen standen mir zwei Hunde zur Verfügung. Dem einen Hunde (Nr. 6) wurden in einer Sitzung doppelseitig durch Laparotomie von vorn die beiden Nervi splanchnici durchschnitten. Das Allgemeinbefinden des Tieres war ein gutes. Die Operation wurde am 21. Mai 1924 ausgeführt, aber am 7. Juni war der Bauch deutlich aufgetrieben, und die Perkussion ergab ein Exsudat in der Bauchhöhle. Das Tier zeigte aber niemals Fieber. Am 16. Juni war der Bauch wieder anscheinend normal geworden. Bei der Sektion am 8. August war die Peritoneumoberfläche dunkelrötlich und matt. In der Bauchhöhle fand ich starke Verwachsung zwischen Milz und Bauchwand, Leber und Darm und ziemlich viel dunkelrötliche Flüssigkeit.

Beim zweiten Hunde (Hund Nr. 7) wurde die Operation zweizeitig ausgeführt. Der linke Nervus splanchnicus wurde am 22. September 1924 durch Laparotomie von vorn resektiert, während am 21. Oktober 1924 der rechte Nervus splanchnicus extraperitoneal von hinten durch Längsschnitt am Rückenbogen reseziert wurde. Bei der Sektion vom 6. Dezember 1924 fand ich die ganze Bauchhöhle und das Peritoneum normal und konnte auch die Schnittstellen der beiden durchschnittenen Nervi splanchnici nachweisen. Die Untersuchungen an diesem Tiere sind dementsprechend die maßgebenden, und ich habe in meiner Arbeit auf die Ergebnisse an diesem Hunde das meiste Gewicht gelegt.

Gemäß dem Plane meiner Arbeit wurde an Hunden der respiratorische Stoffwechsel untersucht. Hierzu diente der *Jaquet*sche Stoffwechselapparat in der Form, wie er im physiologischen Institut in Bern seit mehreren Jahren gebraucht wird. Vor jedem Versuch ließ ich das Tier 16 Stunden lang fasten. Die Respirationskammer wurde 1 Stunde lang vor Beginn des Versuchs mit einer Ventilationsgröße von 1200 Litern pro Stunde ventiliert. Sodann habe ich immer zuerst 2 bis 3 Stunden den Ruheumsatz untersucht, dann entweder Fleisch oder Rohrzucker im Kasten gegeben und 10 Minuten später unter Sammlung der Luft den Versuch fortgesetzt. Die gesamten Eingriffe bezweckten den Einfluß von Fleisch- oder Rohrzuckeraufnahme auf den normalen und den splanchnicuslosen Hund miteinander zu vergleichen. Ich wählte diese Eingriffe von dem Gedanken ausgehend, daß die Aufnahme von Fleisch und die Aufnahme von Rohrzucker innerhalb der Zeitdauer meiner Versuche vor allem die Leber in Mitleidenschaft zieht. Ich bin mir natürlich klar, daß gleichzeitig andere Faktoren in Betracht kommen. Erstens die Darmtätigkeit und zweitens dasjenige, was man mit dem Allgemeinbegriff die spezifisch-dynamische Wirkung bezeichnet. Hätte ich nur letztere untersuchen wollen, so wäre es erforderlich gewesen, die Hunde bei derjenigen Temperatur zu erhalten, wo die chemische Wärmeregulation ausgeschlossen ist. Da ich aber nicht auf die sogenannte spezifisch-dynamische Wirkung einging, auch die Versuchstemperatur, welche für diese Untersuchung notwendig ist, nicht für eine streng physiologische halte, habe ich von der Anwendung der kritischen Temperatur abgesehen. Die Temperaturen, die jeweilig herrschten, sind in meinen Protokollen genau angegeben. Bei allen entscheidenden Versuchen wurden die Temperaturen annähernd konstant erhalten.

Als Analysenapparat diente der Gasanalysenapparat von *Petterson*.

Die Hunde wurden hauptsächlich mit rohem Pferdefleisch ernährt. Hund 6 erhielt 380 g pro Tag, Hund 7 erhielt pro Tag vor der Operation 250 g, nach der Operation 500 g. Diese Änderung war erforderlich, um das Körpergewicht immer gleich zu erhalten. Gelegentlich habe ich zur Verbesserung des Appetits etwas Milch, etwas Brot, etwas Knochen gegeben. Die Mischung von Fleisch und Rohrzucker bei Hund 6 bestand aus 300 g rohem Pferdefleisch und 70 g Rohrzucker. Für Hund 7 250 g Pferdefleisch, und 70 g Rohrzucker, und nach der Operation des Hundes 7 habe ich allerdings die Menge etwas verändert; genauere Angaben hierüber finden sich in den Tabellen. Zur Schilddrüsenfütterung des Hundes, die ich auch noch zur Beurteilung des Zustandes herangezogen habe, dienten mir die Thyreoideatabletten der Firma Bourroughs, Wellcome & Co.

Tabelle I

Vor der Operation. Ruheumsatz

Versuchs-Nr.	Datum 1924	Körpergewicht kg	Zeit nach der Fleischaufnahme	Dauer des Versuchs Min.	Ventilation pro Std. in Liter reduziert	Thermobarograph	Zimmertemperatur °C	Temperatur im Kasten °C	Luftanalyse CO_2 Proz.	Luftanalyse O_2 Proz.
7	21. III.	9,35		55	1111,01	113,41	13,4	21	0,37	20,55
				53	1117,62	113,55	14,1	23	0,38	20,54
			10′—1h	53	1098,20	113,60	14,4	23	0,44	20,45
			1h—2	54	1123,83	113,60	14,7	23	0,54	20,34
			2—3	56	1124,84	113,54	15,0	23	0,52	20,38
			3—4	56	1127,47	113,56	15,4	23	0,51	20,39
			4—5	55	1130,78	113,55	15,7!	23	0,52	20,36
8	25. III.	8,95		52	1096,01	115,70	14,1	23	0,32	20,58
				59	987,97	115,80	14,6	23	0,34	20,57
			10′—1h	56	1080,77	115,89	15,9	23	0,38	20,50
			1h—2	52	1079,25	116,00	15,5	24	0,54	20,34
			2—3	55	1082,64	116,08	15,8	24	0,45	20,45
			3—4	57	1085,49	115,98	15,9	23	0,46	20,44
			4—5	58	1085,32	116,06	16,0	23	0,44	20,44
9	26. III.	9,05		50	916,31	115,90	14,9	23	0,37	20,55
				52	918,10	116,00	15,5	23	0,37	20,55
			10′—1h	51	918,47	116,05	15,8	23	0,46	20,44
			1h—2	57	918,33	116,00	15,9	23	0,57	20,5[illegible]
			2—3	53	996,42	116,00	16,3	23	0,60	20,29
			3—4	60	923,74	116,05	16,4	23	0,59	20,28
			4—5	56	923,65	116,00	16,6	23	0,54	20,35
20	8. V.	10,30		51	909,56	114,60	15,6	22	0,42	20,50
				52	914,22	114,60	16,1	22	0,43	20,49
			10′—1h	54	921,08	114,60	16,3	22	0,45	20,49
			1h—2	56	926,51	114,60	16,5	22	0,54	20,39
			2—3	56	929,08	114,63	16,6	23	0,55	20,38
			3—4	57	939,65	114,60	16,6	23	0,52	20,40
			4—5	52	917,40	114,58	16,6	23	0,57	20,35

Tabelle II. Zusammenfassende

Versuchs-Nr.	Ruheumsatz				nach d
	CO_2-Produktion pro kg und Min. ccm	O_2-Verbrauch pro kg und Min. ccm	Respirationsquotient	Wärmeprodukt. pro kg und Min. cal	CO_2-Produktion pro kg und Min. ccm
7	6,853	8,105	0,846	39,88	9,518
8	5,811	7,419	0,783	36,03	8,548
9	5,575	6,808	0,819	33,31	9,014
20	5,829	6,758	0,863	33,32	7,438
Mittelwert	6,017	7,273	0,827	35,65	8,630

und 6 (♀).

ach der Fleischaufnahme.

CO_2-Produktion pro Std. Liter	CO_2-Produktion pro kg u. Min. ccm	O_2-Verbrauch pro Std. Liter	O_2-Verbrauch pro kg u. Min. ccm	Respirationsquotient	Mittelwert der CO_2-Produkt. pro kg u. Min. ccm	Mittelwert des O_2-Verbr. pro kg u. Min. ccm	Mittelwert der Respirationsquotienten	Mittelwert d. Wärmeprodukt. pro kg u. Min. cal	Bemerkungen
3,777	6,733	4,477	7,981	0,844					
3,912	6,973	4,616	8,228	0,847	6,853	8,105	0,846	39,88	Ruheumsatz
4,503	8,026	5,612	10,003	0,802					
5,732	10,217	7,013	12,500	0,817					300 g Pferdefleisch gegeben
5,512	9,825	6,513	11,609	0,846					
5,412	9,647	6,415	11,435	0,844					
5,540	9,877	6,861	12,230	0,808	9,518	11,555	0,824	56,54	
3,178	5,919	4,154	7,735	0,765					
3,063	5,703	3,814	7,102	0,803	5,811	7,419	0,783	36,03	
3,783	7,044	5,015	9,339	0,754					
5,504	10,250	6,735	12,341	0,817					
4,547	8,468	5,781	10,766	0,787					
4,668	8,692	5,634	10,491	0,829					
4,450	8,286	5,687	10,590	0,782	8,548	10,745	0,796	52,38	
3,024	5,369	3,693	6,801	0,819					
3,030	5,580	3,700	6,814	0,819	5,575	6,808	0,819	33,31	
3,949	7,273	4,767	8,779	0,829					
4,959	9,133	6,006	10,061	0,826					
5,680	10,460	6,686	12,313	0,849					
5,173	9,527	6,161	11,347	0,840					
4,711	8,675	5,644	10,393	0,835	9,014	10,779	0,836	52,94	
3,388	5,740	4,120	6,667	0,861					
3,657	5,217	4,233	6,849	0,864	5,829	6,758	0,863	33,32	
3,869	6,260	4,219	6,826	0,917					
4,725	7,646	5,198	8,411	0,909					
4,831	7,818	5,277	8,539	0,916					
4,604	7,450	5,196	8,408	0,886					
4,954	8,016	5,532	8,951	0,896	7,438	8,227	0,884	41,65	

bersicht der Tabelle III.

...ischaufnahme O_2-Verbrauch pro kg und Min. ccm	Respirationsquotient	Wärmeprodukt. pro kg und Min. cal	Proz. Steigerung der CO_2-Produktion pro kg und Min. ccm	Proz. Steigerung des O_2-Verbrauchs pro kg und Min. ccm	Proz. Steigerung der Wärmeprodukt. pro kg und Min. cal
11,555	0,824	56,54	38,89	42,57	41,78
10,745	0,796	52,38	47,10	44,83	45,38
10,779	0,836	52,94	61,69	58,53	58,93
8,227	0,884	41,65	27,60	21,74	25,00
10,327	0,836	50,72	43,43	41,99	42,27

Tabelle II.

Vor der Operation, Ruheumsatz

Versuchs-Nr.	Datum 1924	Körpergewicht kg	Zeit nach der Zuckeraufnahme	Dauer des Versuchs Min.	Ventilation pro Std. in Liter reduziert	Thermobarograph	Zimmertemperatur °C	Temperatur im Kasten °C	Luftanalyse CO_2 Proz.	Luftanalyse O_2 Proz.
10	27. III.	9,00	†	57	907,57	116,10	14,7	23	0,36	20,55
				50	910,20	116,15	15,3	23	0,35	20,57
			10′—1h	51	1099,53	116,20	15,7	23	0,47	20,50
			1h—2	57	1104,27	116,20	16,0	23	0,50	20,46
			2 —3	55	1131,22	116,15	16,2	23	0,51	20,45
			3 —4	56	1102,52	116,13	16,3	23	0,41	20,55
			4 —5	61	1103,54	116,05	16,4	23	0,38	20,56
12	31. III.	9,00	†	53	1115,45	112,35	12,7	21	0,32	20,62
				55	1117,48	112,46	13,4	22	0,30	20,65
			10′—1h	51	1125,13	112,51	13,7	22	0,42	20,54
			1h—2	53	1129,26	112,58	14,2	23	0,54	20,42
			2 —3	62	1122,44	112,60	14,5	23	0,49	20,46
			3 —4	56	1135,18	112,60	14,7	23	0,44	20,52
			4 —5	55	1137,35	112,51	14,5	23	0,37	20,57
14	2. IV.	9,45	†	52	987,11	112,80	11,8	22	0,44	20,48
				50	1020,45	112,80	12,2	21	0,38	20,51
			10′—1h	60	1036,81	112,75	12,3	22	0,52	20,46
			1h—2	53	1052,79	112,80	12,8	23	0,60	20,37
			2 —3	56	1064,49	112,73	12,9	23	0,47	20,52
			3 —4	55	1070,85	112,63	12,9	23	0,41	20,55
			4 —5	55	1074,45	112,60	12,9	23	0,39	20,59
17	5. V.	10,10		50	922,84	115,73	17,5	23	0,40	20,51
				52	931,78	115,66	17,4	23	0,39	20,53
			10′—1h	52	929,86	115,65	17,4	22	0,55	20,41
			1h—2	58	926,62	115,66	17,5	22	0,64	20,36
			2 —3	56	926,04	115,70	17,6	22	0,61	20,37
			3 —4	58	924,51	115,70	17,7	22	0,48	20,48
			4 —5	59	923,78	115,70	17,7	22	0,42	20,50

Tabelle IV. Zusammenfassende

Versuchs-Nr.	Ruheumsatz CO_2-Produktion pro kg und Min. ccm	Ruheumsatz O_2-Verbrauch pro kg und Min. ccm	Ruheumsatz Respirationsquotient	Ruheumsatz Wärmeprodukt. pro kg und Min. cal	Nach de[…] CO_2-Produktion pro kg und Min. ccm
10	5,470	6,640	0,824	32,49	8,662
12	5,789	6,451	0,897	31,92	8,807
14	6,718	7,833	0,858	38,62	8,361
17	5,585	6,648	0,840	32,65	7,776
Mittelwert	5,891	6,893	0,855	33,98	8,402

Iund 6 (♀).

ach der Zuckeraufnahme.

CO_2-Produktion		O_2-Verbrauch		Respirationsquotient	Mittelwert				Bemerkungen
pro Std. Liter	pro kg u. Min. ccm	pro Std. Liter	pro kg u. Min. ccm		der CO_2-Produkt. pro kg u. Min. ccm	des O_2-Verbr. pro kg u. Min. ccm	der Respirationsquotienten	d. Wärmeprodukt. pro kg u. Min. cal	
2,995	5,546	3,685	6,824	0,813					
2,913	5,394	3,486	6,456	0,836	5,470	6,640	0,824	32,49	Ruheumsatz
4,838	8,959	4,838	8,959	1,000					
5,190	9,611	5,334	9,877	0,973					
5,306	9,826	5,450	10,093	0,974					70 g Rohrzucker gegeben
4,190	7,759	4,609	8,534	0,909					
3,862	7,153	4,282	7,929	0,902	8,662	9,078	0,954	45,50	
3,235	5,990	3,659	6,775	0,884					
3,017	5,587	3,308	6,126	0,912	5,789	6,451	0,897	31,92	
4,388	8,126	4,531	8,397	0,968					
5,759	10,665	5,906	10,937	0,975					Ebenso
5,163	9,562	5,455	10,102	0,947					
4,654	8,619	4,802	8,892	0,969					
3,867	7,161	4,299	7,962	0,900	8,807	9,258	0,951	46,49	
4,047	7,138	4,669	8,234	0,867					
3,571	6,298	4,214	7,431	0,847	6,718	7,833	0,858	38,62	
5,080	8,960	4,946	8,722	1,027					
6,001	10,584	6,001	10,584	1,000					Ebenso
4,684	8,261	4,418	7,791	1,060					
4,869	7,177	4,209	7,422	0,967					
3,868	6,822	3,728	6,576	1,038	8,361	8,219	1,017	41,72	
3,415	6,635	4,116	6,792	0,830					
3,354	5,535	3,941	6,504	0,851	5,585	6,648	0,840	32,65	
4,835	7,979	4,956	8,179	0,976					
5,652	9,327	5,300	8,746	1,066					Ebenso
5,371	8,863	5,251	8,668	1,023					
4,160	6,865	4,281	7,064	0,972					
3,603	5,945	4,185	6,306	0,861	7,776	7,913	0,983	39,88	

bersicht der Tabelle VII.

ckeraufnahme			Proz. Steigerung der CO_2-Produktion pro kg und Min. ccm	Proz. Steigerung des O_2-Verbrauchs pro kg und Min. ccm	Proz. Steigerung der Wärmeprodukt. pro kg und Min. cal
O_2-Verbrauch ro kg und Min. ccm	Respirationsquotient	Wärmeprodukt. pro kg und Min. cal			
9,078	0,954	45,50	58,35	36,17	40,07
9,238	0,951	46,49	52,13	43,51	46,51
8,219	1,017	41,72	30,79	4,93	8,03
7,913	0,983	39,88	39,23	19,03	22,14
8,617	0,975	43,43	42,62	25,00	27,81

Tabelle V. Hund 6 (♀). Vor der Operation

Versuchs-Nr.	Datum 1924	Körpergewicht kg	Zeit nach der Fleischaufnahme	Dauer des Versuchs Min.	Ventilation pro Std. in Liter reduziert	Thermobarograph	Zimmertemperatur °C	Temperatur im Kasten °C	Luftanalyse CO₂ Proz.	Luftanalyse O₂ Proz.
21	9. V.	10,40	†	50	984,41	114,83	15,2	23	0,37	20,55
				60	991,29	114,80	15,4	23	0,36	20,56
				50	993,99	114,81	15,6	23	0,35	20,57
			10'—1h	52	995,13	114,79	15,8	23	0,42	20,48
			1h—2	55	995,54	114,73	16,0	22	0,52	20,40
			2 —3	56	994,90	114,80	16,4	23	0,50	20,41
			3 —4	55	980,15	114,75	10,4	23	0,52	20,39
22	14. V.	10,40	†	53	903,87	113,60	15,8	21	0,38	20,54
				52	919,42	113,70	16,4	22	0,36	20,36
				55	828,98	113,70	16,5	22	0,37	20,36
			10'—1h	55	831,78	113,71	16,7	22	0,46	20,47
			1h—2	56	927,38	113,80	17,1	23	0,58	20,31
			2 —3	56	928,24	113,81	17,3	23	0,57	20,34
			3 —4	54	931,46	113,80	17,4	23	0,62	20,26
23	15. V.	10,40	†	50	1016,86	113,88	17,8	23	0,33	20,60
				55	956,03	113,88	18,0	23	0,37	20,55
				56	927,91	113,85	18,1	22	0,37	20,55
			10'—1h	55	943,62	113,99	18,9	23	0,43	20,49
			1h—2	53	956,30	114,00	18,9	23	0,58	20,33
			2 —3	59	997,41	113,99	19,0	23	0,58	20,34
			3 —4	50	931,99	113,95	19,2	23	0,63	20,25
24	19. V.	10,35	*	54	954,41	117,03	19,7	23	0,38	20,54
				58	858,83	117,08	19,9	23	0,40	20,52
				58	871,56	117,15	20,2	23	0,41	20,52
				54	872,28	117,19	20,5	23	0,41	20,51

† Vor 10 Minuten Jodothyrin 0,5 intramuskulär injiziert. –

Tabelle VI. Zusammenfassende

Versuchs-Nr.	Nach der Schilddrüseninjektion: CO_2-Produktion pro kg und Min. ccm	O_2-Verbrauch pro kg und Min. ccm	Respirationsquotient	Wärmeprodukt. pro kg und Min. cal	Nach der: CO_2-Produktion pro kg und Min. ccm
21	5,234	6,234	0,840	30,62	7,310
22	4,816	5,656	0,852	27,83	7,687
23	5,051	5,962	0,847	29,34	8,058
24	5,151	5,986	0,861	29,51	
Mittelwert	5,038	5,960	0,845	29,33	7,685

ıach der Schilddrüseninjektion, nach der Fleischaufnahme.

CO_2-Produktion		O_2-Verbrauch		Respirationsquotient	Mittelwert				Bemerkungen
pro Std. Liter	pro kg u. Min. ccm	pro Std. Liter	pro kg u. Min. ccm		der CO_2-Produkt. pro kg u. Min. ccm	des O_2-Verbr. pro kg u. Min. ccm	der Respirationsquotienten	d. Wärmeprodukt. pro kg u. Min. cal	
3,347	5,364	3,967	6,358	0,844					0,5 g Jodothyrin subkutan
3,271	5,242	3,896	6,243	0,840					
3,181	5,097	3,807	6,101	0,836	5,234	6,234	0,840	30,62	
3,881	6,220	4,767	7,639	0,814					300 g Pferdefleisch gegeben
4,878	7,818	5,505	8,823	0,886					
4,676	7,494	5,432	8,705	0,861					
4,803	7,697	5,548	8,891	0,889	7,310	8,515	0,858	41,98	
3,164	7,070	3,733	5,982	0,846					Ebenso
3,034	4,862	3,613	5,791	0,840					
2,819	4,517	3,241	5,194	0,870	4,816	5,656	0,852	27,83	
3,577	5,732	4,001	6,412	0,894					
5,101	8,174	6,037	6,975	0,845					Ebenso
5,013	8,033	5,718	9,163	0,877					
5,496	8,807	6,511	10,434	0,844	7,687	8,921	0,862	43,98	
3,051	4,889	3,569	5,720	0,855					Ebenso
3,251	5,209	3,853	6,174	0,845					
3,155	5,056	3,740	5,993	0,844	5,051	5,962	0,847	29,34	
3,775	6,049	4,369	7,002	0,864					
5,260	8,429	5,987	9,594	0,879					
5,486	8,791	6,114	9,798	0,897					
5,592	8,961	6,654	10,664	0,840	8,058	9,265	0,870	45,76	
2,990	4,816	3,529	5,682	0,847					
3,178	5,117	3,719	5,988	0,855					
3,312	5,333	3,756	6,049	0,882					
3,315	5,338	3,864	6,223	0,858	5,151	5,986	0,861	29,51	

* Vor 3 Stunden Jodothyrin (0,5) injiziert (intramuskulär).

'bersicht der Tabelle XI.

ʼeischaufnahme			Proz. Steigerung der CO_2-Produktion pro kg und Min.	Proz. Steigerung des O_2-Verbrauchs pro kg und Min.	Proz. Steigerung der Wärmeprodukt. pro kg und Min.
O_2-Verbrauch ro kg und Min. ccm	Respirationsquotient	Wärmeprodukt. pro kg und Min. cal	ccm	ccm	cal
8,515	0,858	41,98	39,66	36,59	37,10
8,921	0,862	43,98	59,61	57,73	58,03
9,265	0,870	45,76	59,53	55,40	58,97
9,234	0,832	45,27	52,54	54,92	54,35

Tabelle VII. Hund 6 (♀). Die Versuche mit Fleisch

Versuchs-Nr.	Datum 1924	Körpergewicht kg	Zeit nach der Fleischaufnahme	Dauer des Versuchs Min.	Ventilation pro Std. in Liter reduziert	Thermobarograph	Zimmertemperatur °C	Temperatur im Kasten °C	Luftanalyse CO_2 Proz.	Luftanalyse O_2 Proz.	CO pro Std. Liter
13	3. VI.	11,60		50	953,22	115,44	17,8	22	0,45	20,44	4,004
				52	956,96	115,51	18,2	23	0,43	20,47	3,828
			10′—1h	55	961,54	115,61	18,7	23	0,51	20,37	4,615
			1h—2	56	964,42	115,65	18,9	23	0,64	20,24	5,883
			2 —3	54	968,90	115,71	19,1	23	0,68	20,21	6,298
			3 —4	56	973,02	115,73	19,2	23	0,57	20,33	5,254
			4 —5	55	972,44	115,66	19,3	23	0,59	20,31	5,44[illegible]
14	5. VI.	12,15		50	936,44	115,33	17,8	22	0,51	20,37	4,495
				54	955,55	115,35	18,0	22	0,47	20,42	4,204
			10′—1h	54	932,53	115,39	18,3	23	0,60	20,30	5,315
			1h—2	57	958,76	115,39	18,7	23	0,72	20,17	6,616
			2 —3	57	886,77	115,38	18,7	23	0,78	20,10	6,651
			3 —4	57	933,06	115,41	19,0	23	0,73	20,15	6,531
			4 —5	57	877,42	115,41	19,1	23	0,72	20,14	6,054
19	20. VI.	11,25		52	980,34	117,11	19,2	22	0,52	20,36	4,804
				53	1125,70	117,16	19,5	23	0,45	20,45	4,728
			10′—1h	55	1136,17	117,14	19,6	23	0,43	20,49	4,545
			1h—2	57	1066,92	117,11	19,7	23	0,67	20,23	6,828
			2 —3	58	1077,53	117,03	19,5	23	0,62	20,29	6,357
			3 —4	50	951,96	116,98	19,5	23	0,69	20,20	6,283
			4 —5	57	991,88	116,95	19,4	23	0,64	20,25	6,051
20	23. VI.	11,25		51	901,12	117,24	16,7	22	0,52	20,39	4,416
				50	927,88	117,30	17,0	22	0,57	20,34	5,011
			10′—1h	53	976,06	117,26	17,0	22	0,58	20,33	5,368
			1h—2	54	972,69	117,20	17,1	22	0,70	20,20	6,517
			2 —3	56	776,35	117,20	17,3	23	0,68	20,22	6,546
			3 —4	55	978,20	117,21	17,5	23	0,65	20,26	6,065
			4 —5	59	936,72	117,25	17,6	23	0,60	20,24	5,901
21	26. VI.	11,30		50	1052,89	114,34	18,1	22	0,57	20,33	5,556
				59	901,12	115,45	18,8	23	0,57	20,34	4,866
			10′—1h	59	992,66	115,56	19,1	23	0,65	20,23	6,155
			1h—2	58	993,06	115,63	19,5	23	0,70	20,20	6,654
			2 —3	57	993,67	115,68	19,7	23	0,68	20,21	6,459
			3 —4	58	994,25	115,70	19,9	23	0,65	20,23	6,164
			4 —5	55	980,08	115,76	20,1	23	0,67	20,21	6,273
23	3. VII.	11,45		58	1039,36	118,65	20,2	23	0,51	20,40	4,989
				50	1239,01	118,73	20,5	24	0,49	20,43	5,690
			10′—1h	52	1143,06	118,71	20,5	23	0,59	20,33	6,401
			1h—2	56	1144,58	118,79	20,9	23	0,66	20,25	7,211
			2 —3	61	1089,59	118,80	20,9	23	0,63	20,26	6,538
			3 —4	52	1152,29	118,86	21,2	24	0,63	20,26	6,914
			4 —5	54	818,67	118,90	21,3	24	0,82	20,05	6,467
29	24. VII.	12,00		50	990,57	115,57	17,5	23	0,44	20,49	4,061
				50	999,40	115,75	18,1	23	0,50	20,42	4,697
			10′—1h	52	1001,48	116,02	18,9	23	0,50	20,41	4,707
			1h—2	56	1008,01	116,07	19,0	23	0,62	20,30	5,947
			2 —3	61	1008,82	116,08	19,2	23	0,67	20,25	6,456
			3 —4	57	1003,41	116,13	19,5	24	0,71	20,19	6,823
			4 —5	60	1005,00	116,12	19,6	24	0,65	20,26	6,231
31	31. VII.	12,00		57	840,34	117,12	18,7	23	0,63	20,23	5,042
				55	854,48	117,20	19,0	25	0,56	20,32	4,529
				53	860,50	117,22	19,2	25	0,57	20,31	4,647
			10′—1h	54	969,27	117,27	19,4	25	0,57	20,32	5,234
			1h—2	57	970,32	117,27	18,3	26	0,71	20,16	6,564
			2 —3	56	969,79	117,22	19,6	25	0,75	20,12	6,982
			3 —4	57	970,00	117,20	19,6	25	0,71	20,16	6,596

nach der beiderseitigen Splanchniektomie (21. V. operiert).

roduktion		O_2-Verbrauch			Respirationsquotient	Mittelwert der Respirationsquotienten	Kalorienbild. pro kg u. Min.	Proz. Steigerung			Bemerkungen
pro kg u. Min.	Mittelwert pro kg u. Min.	pro Std.	pro kg u. Min.	Mittelwert pro kg u. Min.				der CO_2-Bildung	des O_2-Verbr.	der Kalorienbildung	
ccm	ccm	Liter	ccm	ccm			cal				
5,752		4,966	7,136		0,806						
5,500	5,626	4,680	6,724	6,930	0,818	0,812	33,85				Ruheumsatz
6,631		4,537	8,206		0,808						
8,453		6,982	10,032		0,843						
9,049		7,276	10,455		0,866						300 g Pferdefleisch gegeben
7,549		6,120	8,794		0,859						
7,824	7,901	6,311	9,068	9,311	0,863	0,849	45,82	40,44	34,36	35,37	
6,166		5,563	7,630		0,808						
5,767	5,967	5,170	7,091	7,361	0,813	0,811	35,95				
7,291		6,145	6,430		0,865						
9,073		7,584	10,403		0,872						Ebenso
9,123		7,658	10,505		0,868						
8,959		7,595	10,419		0,860						
8,305	8,511	7,274	9,978	9,947	0,832	0,860	49,04	43,30	34,17	36,41	
7,117		5,921	8,772		0,811						
7,003	7,060	5,730	8,489	8,631	0,825	0,818	42,23				
6,733		5,261	7,793		0,864						
0,113		7,778	11,523		0,878						Ebenso
9,418		7,176	10,632		0,886						
9,308		7,244	10,732		0,867						
8,964	8,908	7,052	10,448	10,226	0,858	0,871	50,51	26,18	18,48	19,61	
6,541		5,100	7,556		0,866						
7,423	6,982	5,716	8,468	8,013	0,877	0,871	39,58				
7,953		6,110	9,052		0,879						
9,655		7,383	10,938		0,883						Ebenso
9,402		7,215	10,689		0,880						
8,985		6,808	10,086		0,891						
8,743	8,948	6,735	9,978	10,149	0,876	0,882	50,22	28,16	26,66	26,89	
8,386		6,623	9,768		0,859						
7,177	7,782	5,551	8,187	8,978	0,877	0,867	44,34				
9,077		7,286	10,747		0,845						
9,813		7,537	11,117		0,883						Ebenso
9,526		7,462	11,007		0,866						
9,092		7,298	10,757		0,845						
9,252	9,352	7,390	10,899	10,905	0,849	0,858	53,76	20,18	21,46	21,24	
7,262		5,779	8,412		0,863						
8,296	7,780	6,480	9,432	8,922	0,880	0,872	44,07				
9,318		7,121	10,366		0,878						
0,496		8,081	11,765		0,892						Ebenso
9,516		7,638	11,118		0,856						
0,064		8,078	11,758		0,856						
9,414	9,762	7,508	10,927	11,187	0,862	0,873	55,25	25,47	25,39	25,37	
5,641		4,567	6,342		0,889						
6,524	6,083	5,327	7,398	6,870	0,882	0,885	34,06				
6,538		5,468	7,595		0,861						
8,200		6,582	9,142		0,904						Ebenso
8,967		7,092	9,850		0,910						
9,477		7,717	10,717		0,884						
8,654	8,379	6,995	9,715	9,404	0,891	0,891	46,62	37,75	36,89	36,88	
7,003		6,210	8,625		0,812						
6,290	6,582	5,503	7,643	8,028	0,823	0,820	39,28				
6,454		5,628	7,816		0,826						
7,270		6,213	8,629		0,842						Ebenso
9,164		7,831	10,876		0,843						
9,698		8,214	11,408		0,850						
9,161	8,823	7,828	10,872	10,446	0,843	0,845	51,40	34,05	30,12	31,01	

Um eine allgemeine Übersicht für den Verlauf meiner Versuche zu geben, diene nachfolgende Tabelle:

Hund 6:

1. Versuch mit Fleisch vor der Operation.
2. „ „ Rohrzucker vor der Operation.
3. „ „ Jodothyrininjektion und Fleisch vor der Operation.
4. „ „ Fleisch nach der beiderseitigen Splanchniektomie.
5. „ „ Rohrzucker nach der beiderseitigen Splanchniektomie.
6. „ „ Jodothyrininjektion und Fleisch nach der beiderseitigen Splanchniektomie.

Hund 7:

1. Versuch mit Fleisch vor der Operation.
2. „ „ Rohrzucker vor der Operation.
3. „ „ Schilddrüsen und Fleisch nach der Operation.
4. „ „ Fleisch nach der Operation.
5. „ „ Rohrzucker nach der Operation.
6. „ „ Schilddrüse und Fleisch nach der Operation.

In Tabelle I bringe ich Versuche an Hund 6 vor der Operation. welche Angaben über den Ruheumsatz und den Umsatz nach der Fleischaufnahme enthalten.

Im Mittel betrug der Ruheumsatz und die Kohlensäureproduktion pro Kilogramm und pro Minute 6,017 ccm, der Sauerstoffverbrauch 7,273 ccm, der respiratorische Quotient betrug durchschnittlich 0,827, die Wärmeproduktion pro Kilogramm und Minute in kleinen Kalorien 35,65. Durch die Fleischaufnahme kam es zu einer prozentischen Steigerung der Kohlensäureproduktion von 43,43 Proz., des Sauerstoffverbrauchs von 41,99 Proz., der Wärmeproduktion von 42,27 Proz.

Die Tabelle III gibt Auskunft über die prozentische Steigerung des Ruheumsatzes nach der Zuckeraufnahme. Hier betrug die prozentische Steigerung der Kohlensäureproduktion 42,62 Proz., des Sauerstoffverbrauchs 25,00 Proz., der Wasserproduktion 27,81 Proz. Bei diesem Tiere war also auch eine erhebliche Steigerung des Grundumsatzes durch Rohrzucker nachweisbar, eine Steigerung, die wohl durch die Annahme erklärlich ist, daß die Verarbeitung des Zuckers im Körper mit einem Energieverbrauch verknüpft sei.

In Tabelle V berichte ich über Versuche, wo die Fleischaufnahme erfolgte, als das Tier unter dem Einfluß von Schilddrüsenmedikation stand. Auf den normalen Grundumsatz wirkte die Zufuhr von Schilddrüse nicht ein. Dies ist eine Erfahrung, die sehr häufig an normalen Hunden im Berner physiologischen Institut gemacht worden ist. Ich möchte allerdings bemerken, daß ich in dieser Versuchsreihe intramuskuläre Injektionen von Jodothyrin gemacht habe. Während so Schilddrüse an und für sich keine Wirkung hatte, war doch ein Einfluß auf die Wirkung der Fleischaufnahme bemerklich, denn die prozentischen

Tabelle VIII. Zusammenfassende Übersicht der Tabelle VII.

Versuchs-Nr.	Ruheumsatz				Nach der Fleischaufnahme				Proz. Steigerung der CO_2-Bildung	Proz. Steigerung des O_2-Verbrauchs	Proz. Steigerung der Kalorienbildung
	CO_2-Bildung pro kg und Min. ccm	O_2-Verbrauch pro kg und Min. ccm	Respirationsquotient	Kalorienbildung cal	CO_2-Bildung pro kg und Min. ccm	O_2-Verbrauch pro kg und Min. ccm	Respirationsquotient	Kalorienbildung cal			
13	5,626	6,930	0,812	33,85	7,901	9,310	0,849	45,82	40,44	34,36	35,37
14	5,967	7,361	0,811	35,95	8,511	9,947	0,860	49,04	43,30	34,17	36,41
19	7,060	8,631	0,818	42,23	8,908	10,226	0,871	50,51	26,18	18,48	15,61
20	6,982	8,013	0,871	39,58	8,948	10,149	0,882	50,22	28,16	26,66	26,89
21	7,782	8,978	0,867	44,34	9,352	10,905	0,858	53,76	20,18	21,46	21,24
23	7,780	8,922	0,872	44,07	9,862	11,187	0,873	55,25	25,47	25,39	25,37
29	6,083	6,870	0,885	34,06	8,379	9,404	0,891	46,52	37,75	36,89	36,88
31	6,582	8,028	0,820	39,28	8,823	10,446	0,845	51,40	34,05	30,12	31,01
Mittelwert	6,733	7,967	0,845	39,16	8,823	10,184	0,866	50,33	31,94	28,44	29,10

Tabelle X. Zusammenfassende Übersicht der Tabelle IX.

Versuchs-Nr.	Ruheumsatz				Nach der Rohrzuckeraufnahme				Proz. Steigerung der CO_2-Bildung	Proz. Steigerung des O_2-Verbrauchs	Proz. Steigerung der Kalorienbildung
	CO_2-Bildung pro kg und Min. ccm	O_2-Verbrauch pro kg und Min. ccm	Respirationsquotient	Kalorienbildung cal	CO_2-bildung pro kg und Min. ccm	O_2-Verbrauch pro kg und Min. ccm	Respirationsquotient	Kalorienbildung cal			
15	4.847	5,798	0,836	28,48	6,949	6,885	1,009	34,89	43,37	18,75	22,50
16	4,532	5,511	0,822	26,97	6.391	6,420	0,995	32,47	41,02	16,49	20,40
17	5,745	6,999	0,820	34,25	8,646	8,881	0,974	44,68	50,50	25,75	30,46
18	7,288	8,799	0,828	43,14	9,509	9,615	0,989	48,55	30,48	9,27	12,54
22	8,164	9,257	0,882	45,81	9,305	9,227	1,009	46,76	13,97	—0,32	2,07
24	6,719	7,993	0,841	39,26	9,053	9,630	0,967	47,09	34,74	17,10	19,95
25	6.528	7,376	0,885	36.57	9,348	8,968	1,042	45,69	43,20	21,58	24,94
Mittelwert	6,260	7,390	0,859	36,35	8,457	8,479	0,997	42,88	36,75	15,52	18,98

Tabelle IX. Hund 6 (♀). Die Versuche mit Rohrzuck…

Versuchs-Nr.	Datum 1924	Körpergewicht kg	Zeit nach der Rohrzuckeraufnahme	Dauer des Versuchs Min.	Ventilation pro Std. in Liter reduziert	Thermobarograph	Zimmertemperatur °C	Temperatur im Kasten °C	Luftanalyse CO_2 Proz.	Luftanalyse O_2 Proz.	CO… pro Std. Liter
15	10. VI.	15,50		50	1035,99	115,60	18,1	22	0,46	20,44	4.455
				55	950,05	115,63	18,4	23	0,51	20,39	4.560
			10′—1h	54	1063,34	115,70	18,9	23	0,64	20,32	6.485
			1h—2	58	964,70	115,70	19,0	23	0,73	20.25	6.753
			2 —3	61	941,02	115,71	19,4	22	0.80	20.20	7.246
			3 —4	59	972,95	115,73	19,7	22	0,61	20.37	5.642
			4 —5	52	912,22	115,71	19,9	22	0,71	20,23	6.263
16	12. VI.	15,50		57	965,01	115,33	17,7	22	0,45	20,44	4.053
				53	951,16	115,45	18,2	23	0,49	20,41	4.375
			10′—1h	53	1071,77	115,45	18,2	23	0,57	20,39	5.788
			1h—2	59	1065,70	115,56	18,6	23	0,65	20.33	6.007
			2 —3	58	985,01	115,63	18,7	23	0,72	20.26	6.797
			3 —4	60	1035,44	115,70	19,1	23	0,60	20.36	5.909
			4 —5	60	983,92	115,66	19,0	23	0,50	20.46	4.624
17	16. VI.	12,20		54	965,85	114,81	16,1	21	0,47	20,42	4.250
				54	967,40	114,97	16,7	22	0,46	20.44	4.160
			10′—1h	59	941,60	115,13	17,3	22	0,64	20.30	5.744
			1h—2	57	1013,14	115,24	17,8	23	0,67	20.31	6.484
			2 —3	58	1008,00	115,25	18,0	23	0,71	20,27	6.854
			3 —4	59	1107,68	115,25	18,1	23	0,65	20,29	6.248
			4 —5	53	1002,39	115,31	18,5	23	0,66	20,28	6.315
18	18. VI.	11,55		52	928,54	114,82	18,7	22	0,59	20.29	5.200
				53	907,63	115,00	19,2	22	0,57	20.31	4.901
			10′—1h	53	906,64	115,00	19,4	22	0,69	20.25	5.98[illegible]
			1h—2	58	920,20	115,03	19,5	22	0,79	20.19	6.9[illegible]
			2 —3	61	858,47	115,15	19,9	23	0,84	20.15	6.954
			3 —4	51	863,22	115,30	20,5	24	0,81	20.17	6.733
			4 —5	58	923,41	115,28	20,5	24	0,71	20,22	6.279
22	1. VII.	11,55		50	949,09	117,08	20,4	23	0,65	20.25	5.884
				50	1064,73	117,10	20,6	23	0,54	20.38	5.430
			10′—1h	51	1067,87	117,11	20,7	23	0,61	20.33	6.134
			1h—2	54	1102,77	117,18	21,0	23	0,62	20,36	6.50[illegible]
			2 —3	53	1063,55	117,30	21,2	24	0,63	20.35	6.381
			3 —4	58	1023,11	117,39	21,6	24	0,69	20,29	6.753
			4 —5	59	1050,64	117,41	21,7	24	0,64	20.35	6.409
24	8. VII.	11,10		51	919,17	115,45	18,1	22	0,53	20.37	4.596
				53	989,13	115,71	18,9	23	0,47	20,43	4.353
			10′—1h	55	992,16	116,00	19,8	23	0,61	20,32	5.755
			1h—2	54	996,78	116,04	20,1	23	0,63	20,32	5.981
			2 —3	58	975,76	116,09	20,1	23	0,68	20,27	6.343
			3 —4	55	1124,66	116,11	20,5	23	0,57	20,39	6.073
			4 —5	54	1110,63	116,15	20,5	23	0,57	20,41	5.997
25	10. VII.	11,55		54	861,44	116,73	19,0	23	0,52	20,40	4.221
				51	915,74	116,91	19,6	23	0,51	20.41	4.396
			10′—1h	57	917,52	117,02	19,9	23	0,67	20.30	5.872
			1h—2	55	878,65	117,08	20,0	23	0,71	20.28	5.975
			2 —3	58	922,29	117,10	20,2	23	0,75	20.25	6.641
			3 —4	57	922,87	117,14	20,6	23	0,73	20.25	6.460
			4 —5	61	922,03	117,24	20,9	23	0,67	20,29	5.901

ach der beiderseitigen Splanchniektomie (21. V. operiert).

oduktion		O_2-Verbrauch			Respirationsquotient	Mittelwert der Respirationsquotienten	Kalorienbild. pro kg u. Min. cal	Proz. Steigerung			Bemerkungen
pro kg u. Min. ccm	Mittelwert pro kg u. Min. ccm	pro Std. Liter	pro kg u. Min. ccm	Mittelwert pro kg u. Min. ccm				der CO_2-Bildung	des O_2-Verbr.	der Kalorienbildung	
4,790		5,377	5,782		0,829						
,904	4,847	5,406	5,813	5,798	0,844	0,836	28,48				Ruheumsatz
,973		6,623	7,122		0,979						
,262		6,628	7,127		1,019						
,791		6,700	7,204		1,082						70 g Rohrzucker gegeben
,067		5,516	5,931		1,047						
,670	6,949	6,550	7,043	6,885	0,947	1,009	34,89	43,37	18,75	22,50	
4,358		5,028	5,406		0,806						
4,705	4,532	5,222	5,615	5,511	0,838	0,822	26,97				
,223		5,927	6,373		0,976						
,105		6,469	6,956		1,022						Ebenso
,308		6,669	7,170		1,019						
,346		6,037	6,491		0,978						
,973	6,391	4,752	5,110	6,420	0,943	0,995	32,47	41,02	16,49	20,40	
,806		5,225	7,138		0,813						
,683	5,745	5,020	6,859	6,999	0,829	0,820	34,25				
,847		6,102	8,336		0,941						
,858		6,400	8,678		1,021						Ebenso
,364		6,723	9,185		1,020						
,535		6,631	9,058		0,902						
,627	8,646	6,696	9,147	8,881	0,943	0,974	44,68	50,50	25,75	30,46	
,503		6,258	9,031		0,831						
,072	7,288	5,936	8,566	8,799	0,826	0,828	43,14				
,635		6,328	9,132		0,946						
,099		6,879	9,927		1,017						Ebenso
,034		6,739	9,724		1,032						
,716		6,621	9,554		1,017						
,061	9,509	6,750	9,740	9,615	0,930	0,989	48,55	30,48	9,27	12,54	
,491		6,729	9,170		0,874						
,836	8,164	6,101	8,804	9,257	0,890	0,882	45,81				
,938		6,600	9,523		0,939						
,389		6,363	9,182		1,023						Ebenso
,208		6,243	9,009		1,022						
,744		6,620	9,552		1,020						
,248	9,305	6,146	8,869	9,227	1,043	1,009	46,76	13,97	−0,32	2,07	
,901		5,414	8,129		0,849						
,536	6,719	5,233	7,857	7,993	0,832	0,841	39,26				
,640		6,261	9,401		0,919						
,980		6,240	9,369		0,959						Ebenso
,523		6,596	9,904		0,962						
,119		6,219	9,338		0,977						
,005	9,053	5,853	8,788	9,360	1,025	0,967	47,09	34,74	17,10	19,95	
,396		4,764	7,218		0,886						
,660	6,528	4,972	7,534	7,376	0,884	0,885	36,57				
,897		5,872	8,897		1,000						
,053		5,755	8,720		1,038						Ebenso
,661		5,606	0,494		1,185						
,788		6,340	9,606		1,019						
,941	9,348	6,021	9,123	8,968	0,980	1,042	45,69	43,20	21,58	24,94	

Tabelle XI

Die Versuche mit Jodothyrin

Versuchs-Nr.	Datum 1924	Körpergewicht kg	Zeit nach der Fleischaufnahme	Dauer des Versuchs Min.	Ventilation pro Std. in Liter reduziert	Thermobarograph	Zimmertemperatur °C	Temperatur im Kasten °C	Luftanalyse CO_2 Proz.	Luftanalyse O_2 Proz.	CO pro Std. Liter
26	14. VII.	11,50		59	907,49	116,88	21,6	23	0,44	20,47	3,721
				53	923,08	117,00	22,0	24	0,45	20,46	3,877
				53	965,07	117,07	22,1	24	0,47	20,43	4,240
			10′—1h	55	987,93	117,16	22,6	24	0,52	20,36	4,841
			1h—2	56	986,90	117,25	22,9	25	0,61	20,27	5,724
			2 —3	54	982,90	117,34	23,3	25	0,64	20,24	5,996
			3 —4	59	985,97	117,50	24,0	25	0,62	20,26	5,816
27	16. VII.	11,75		54	909,66	117,14	22,3	24	0,53	20,39	4,548
				57	925,86	117,33	23,0	24	0,57	20,35	5,001
				53	923,55	117,43	23,3	24	0,53	20,38	4,616
			10′—1h	55	934,56	117,43	23,2	24	0,60	20,30	5,327
			1h—2	58	924,92	117,55	23,6	25	0,64	20,25	5,642
			2 —3	54	936,07	117,75	24,4	26	0,59	20,29	5,242
			3 —4	56	934,52	117,86	24,5	26	0,66	20,21	5,888
28	22. VII.	11,70		50	879,92	117,01	20,5	23	0,46	20,44	3,784
				51	886,47	117,05	20,8	23	0,48	20,42	3,980
				51	891,28	116,95	20,8	23	0,47	20,43	3,922
			10′—1h	53	902,88	117,11	21,0	23	0,57	20,29	4,876
			1h—2	54	887,37	117,20	21,3	23	0,74	20,12	6,301
			2 —3	60	917,28	117,31	21,7	23	0,77	20,07	6,788
			3 —5	47	920,91	117,39	21,7	23	0,69	20,15	6,078
30	29. VII.	12,05		61	948,20	116,39	18,2	25	0,52	20,36	4,646
				53	967,71	116,40	18,2	25	0,55	20,33	5,032
				52	975,50	116,39	18,3	25	0,53	20,36	4,878
			10′—1h	54	979,10	116,32	18,3	25	0,58	20,30	5,385
			1h—2	54	980,22	116,30	18,4	25	0,65	20,23	6,077
			2 —3	56	979,56	116,16	18,2	25	0,73	20,15	6,857
			3 —4	57	979,06	116,33	19,2	26	0,70	20,18	6,560

Tabelle XII. Zusammengefaßte

Versuchs-Nr.	Nach der Jodothyrininjektion: CO_2-Bildung pro kg u. Min. ccm	O_2-Verbrauch pro kg u. Min. ccm	Respirationsquotient	Kalorienbildung pro kg u. Min. cal	Nach de…: CO_2-Bildung pro kg u. Min. ccm
26	5,712	6,809	0,839	33,44	8,108
27	6,698	7,576	0,884	37,49	7,837
28	5,553	6,676	0,832	32,73	8,562
30	8,711	8,172	0,821	39,99	8,603
Mittelwert	6,664	7,409	0,899	35,91	8,278

Hund 6 (♀).

nach der beiderseitigen Splanchniektomie (21. V. operiert).

roduktion pro kg u. Min. ccm	Mittelwert pro kg u. Min. ccm	O_2-Verbrauch pro Std. Liter	O_2-Verbrauch pro kg u. Min. ccm	O_2-Verbrauch Mittelwert pro kg u. Min. ccm	Respirationsquotient	Mittelwert der Respirationsquotienten	Kalorienbildung pro kg u. Min. cal	Proz. Steigerung der CO_2-Bildung	Proz. Steigerung des O_2-Verbr.	Proz. Steigerung der Kalorienbildung	Bemerkungen
5,392		4,410	6,392		0,844						0,5 g Jodothyrin subkutan
5,619		4,579	6,635		0,847						
6,126	5,712	5,105	7,399	6,809	0,828	0,839	33,44				
7,016		5,967	8,648		0,811						300 g Pferdefleisch gegeben
8,296		6,849	9,926		0,836						
8,689		7,116	10,313		0,843						
8,429	8,108	6,940	10,058	9,736	0,838	0,833	47,73	41,96	42,99	42,73	
6,451		5,121	7,264		0,888						
7,092		5,583	7,919		0,896						
6,550	6,698	5,320	7,546	7,576	0,868	0,884	37,49				Ebenso
7,556		6,159	8,736		0,865						
8,003		6,576	9,328		0,858						
7,436		6,309	8,949		0,831						
3,351	7,837	7,074	10,534	9,262	0,832	0,846	45,58	17,01	22,25	21,58	
5,390		4,567	6,505		0,829						
5,083		4,778	6,806		0,835						
5,586	5,553	4,715	6,716	6,676	0,832	0,832	32,73				Ebenso
3,945		6,131	8,733		0,795						
3,975		7,534	10,732		0,836						
9,669		8,292	11,812		0,819						
3,658	8,562	7,588	10,809	10,522	0,801	0,814	51,38	54,19	57,60	56,99	
5,426		5,727	7,921		0,811						
3,960		6,135	8,486		0,820						
5,746	5,711	5,863	8,109	8,172	0,832	0,821	39,99				Ebenso
7,448		6,501	8,992		0,828						
3,406		7,195	9,951		0,845						
9,484		7,974	11,029		0,860						
9,073	8,603	7,676	10,607	10,145	0,855	0,848	49,92	28,19	24,14	24,83	

Übersicht der Tabelle XI.

eischaufnahme O_2-Verbrauch pro kg u. Min. ccm	Respirationsquotient	Kalorienbildung pro kg u. Min. cal	Proz. Steigerung der CO_2-Bildung	Proz. Steigerung des O_2-Verbrauchs	Proz. Steigerung der Kalorienbildung
9,736	0,833	47,73	41,96	42,99	42,73
9,262	0,846	45,58	17,01	22,25	21,58
10,522	0,814	51,38	54,19	57,60	56,99
10,145	0,848	49,92	27,19	24,14	24,83
9,916	0,835	48,65	35,34	36,75	36,53

Steigerungen des Grundumsatzes waren ganz außerordentlich hohe, höher als in der voraufgehenden Reihe.

Die prozentische Steigerung für die Kohlensäureproduktion betrug 52,54 Proz., für den Sauerstoffverbrauch 54,92 Proz., für die Wasserproduktion 54,35 Proz.

Bekanntlich hat *Abelin* in mehrfachen Arbeiten in dieser Zeitschrift auf den Zusammenhang von Schilddrüsenfütterung und sogenannter spezifisch-dynamischer Wirkung der Nahrungsstoffe hingewiesen. Ich will auf diese Beziehungen an dieser Stelle nicht weiter eingehen, sondern begnüge mich nur mit dem kursorischen Hinweis darauf. Die Steigerung ist ein Ausdruck für die größere Aktivierung der am Stoffwechsel beteiligten Mechanismen durch die Schilddrüse. Meine Tabellen VII und VIII bringen die Ergebnisse der Versuche mit Fleischzufuhr nach der Splanchniektomie.

Was den Grundumsatz anbelangt, so hat er anscheinend eine kleine Steigerung erfahren, indem die Kohlensäurebildung pro Kilogramm und Minute 6,73 ccm beträgt, der Sauerstoffverbrauch 7,97 ccm, die Kohlensäurebildung 39,16 Proz., auch der respiratorische Quotient ist ein klein wenig erhöht, auf 0,845 Proz. Aber die Steigerung ist keine sehr erhebliche. Was nun die prozentische Steigerung nach der Fleischaufnahme betrifft, so beträgt sie für die Kohlensäurebildung 31,94 Proz., für den Sauerstoffverbrauch 28,44 Proz., für die Kalorienbildung 29,10 Proz., also jedenfalls sehr viel geringer als vor der Operation.

In den Tabellen IX und X bringe ich die Versuche mit Rohrzuckeraufnahme nach der Operation. Auch hier bewirkt wiederum die Rohrzuckeraufnahme eine in Betracht kommende Steigerung des Umsatzes. Es ist die Kohlensäurebildung um 37,75 Proz., der Sauerstoffverbrauch um 15,52 Proz. und die Kalorienbildung um 18,98 Proz. gesteigert. Wiederum ist diese Steigerung sehr viel geringer als vor der Operation.

In der nachfolgenden Versuchsreihe bringe ich die Protokolle über den Einfluß von Jodothyrin nach der Operation auf die Folgen der Fleischaufnahme.

Jodothyrininjektion hat auf den Ruheumsatz keinen Einfluß, er bleibt gegenüber vorher im wesentlichen unverändert. Die Steigerung des Umsatzes nach der Fleischaufnahme ist 35,34 Proz. für die Kohlensäurebildung, 36,75 Proz. für den Sauerstoffverbrauch und 16,53 Proz. für die Kalorienbildung. Die Steigerungen sind wiederum geringer als diejenigen vor der Operation.

Die Resultate nach der Operation halte ich nicht für den natürlichen Ausdruck des Tatbestandes. Es bestimmt mich hierzu nur der Umstand, daß die Bauchhöhle des Hundes bei der Sektion sich als durchaus abnorm erwies. Wenngleich, äußerlich betrachtet, der Hund sich

wohlbefand, waren doch die Veränderungen in der Bauchhöhle so, daß sie vollständig hinreichen, um feinere Unterschiede der Innervationszustände vollständig auszuwischen. Daß es sich nicht um bloße Vermutungen handelt, wird bewiesen durch die klaren Resultate meiner Versuche an Hund 7, wo, wie ich oben geschildert habe, jederzeit das Verhalten des Hundes ein normales war und wo die Sektion auch durchaus normales Verhalten der Baucheingeweide und des Bauchhöhleninhalts offenbarten. Es sind die nachfolgenden Versuche an diesem Hunde die entscheidenden.

In den Tabellen XIII und XIV teile ich Protokolle über den Ruheumsatz des Tieres vor der Operation, sowie über den Einfluß der Fleischaufnahme auf den Ruheumsatz mit.

Der normale Ruheumsatz betrug pro Kilogramm und Minute für die Kohlensäurebildung 6,675 ccm, für den Sauerstoffverbrauch 8,159 ccm, für die Kalorienbildung pro Kilogramm und Minute in kleinen Kalorien 39,92 ccm, der Mittelwert des respiratorischen Quotienten ist 9,816. Dies sind alles Werte, wie sie durch eine langjährige Erfahrung unter gleichen Bedingungen bekannt sind. Die Fleischaufnahme steigerte die Kohlensäurebildung um 27,24 Proz., den Sauerstoffverbrauch um 21,80 Proz. und die Kalorienbildung um 22,49 Proz. Diese Steigerung erweist sich innerhalb der normalen Grenzen.

In den Tabellen XV und XVI teile ich die Versuche mit, wo Hund 7 vor der Operation Rohrzucker erhielt.

Auch in dieser Versuchsreihe erzielte die Rohrzuckeraufnahme eine recht erhebliche Steigerung des Ruheumsatzes, ja dieselbe war sogar größer als diejenige nach Fleischaufnahme. Es betrug nämlich die prozentische Steigerung der Kohlensäurebildung 49,57 Proz., die Steigerung des Sauerstoffverbrauchs 26,06 Proz. und diejenige der Kalorienbildung 29,66 Proz. Aus welchem Grunde die Steigerung des Umsatzes nach bloßer Rohrzuckeraufnahme so groß war, vermag ich aus den vorliegenden Bedingungen meines Versuchs nicht anzugeben. Ich bemerke nur, daß die Temperatur im Kasten nicht sehr viel von der kritischen Temperatur abwich, sie betrug nämlich 26°. Die Zimmertemperatur schwankte zwischen 18 und 20°.

In der nachfolgenden Versuchsreihe berichte ich über die Erfolge der Schilddrüsenfütterung und die darauf gesetzte Wirkung von Fleischaufnahme auf den Grundumsatz.

Es ergibt sich zunächst, daß die Schilddrüsenfütterung keinen merklichen Einfluß auf den Ruheumsatz hatte, er ist annähernd der gleiche wie vorher. Dementsprechend ist diesmal selbst die prozentische Steigerung des Ruheumsatzes durch die Fleischaufnahme nicht gegenüber der Periode ohne Schilddrüsenzufuhr geändert. Man könnte daran denken, daß das Nichtauftreten einer Steigerung des Umsatzes

Tabelle XIII.

Vor der Operation, ohne Schilddr[illegible]

Versuchs-Nr.	Datum 1924	Körpergewicht kg	Zeit nach der Zuckeraufnahme	Dauer des Versuchs Min.	Ventilation pro Std. in Liter reduziert	Thermobarograph	Zimmertemperatur °C	Temperatur im Kasten °C	Luftanalyse CO_2 Proz.	Luftanalyse O_2 Proz.	CO_2 [illegible] Liter
1	24. VI.	11,00		52	984,53	117,08	17,0	22	0,40	20,49	3,6[illegible]
				56	986,90	117,25	17,6	23	0,40	20,50	3,6[illegible]
			10′—1h	53	964,97	117,20	17,5	23	0,53	20,35	4,8[illegible]
			1h—2	53	910,22	117,16	17,5	23	0,64	20,25	5,5[illegible]
			2 —3	59	998,46	117,13	17,4	23	0,62	20,27	5,8[illegible]
			3 —4	61	992,59	117,13	17,6	23	0,59	20,29	5,[illegible]
			4 —5	53	917,22	117,13	17,7	23	0,59	20,28	5,1[illegible]
2	27. VI.	11,00		51	986,59	115,55	19,3	22	0,52	20,36	4,8[illegible]
				54	970,70	115,61	19,5	23	0,49	20,39	4,4[illegible]
			10′—1h	55	1009,05	115,68	19,6	23	0,57	20,31	5,4[illegible]
			1h—2	59	1011,15	115,76	20,0	23	0,64	20,26	6,1[illegible]
			2 —3	56	991,60	115,83	20,3	23	0,61	20,27	5,7[illegible]
			3 —4	55	1015,19	115,84	20,5	23	0,59	20,31	5,[illegible]
			4 —5	57	964,20	115,94	20,8	24	0,58	20,30	5,[illegible]
3	2. VII.	10,80		53	1185,63	118,59	21,0	23	0,41	20,49	4,[illegible]
				55	1294,78	118,63	21,1	24	0,39	20,51	4,[illegible]
			10′—1h	53	1234,98	118,70	21,2	24	0,48	20,44	5,[illegible]
			1h—2	54	973,10	118,75	21,7	24	0,63	20,28	5,8[illegible]
			2 —3	53	1060,60	118,80	21,9	24	0,62	20,30	6,2[illegible]
			3 —4	58	1082,83	118,75	21,8	24	0,59	20,30	6,0[illegible]
			4 —5	56	1039,37	118,65	21,7	24	0,56	20,32	5,[illegible]
4	4. VII.	10,80		54	857,64	119,19	20,6	23	0,54	20,33	4,[illegible]
				54	865,10	119,19	20,8	23	0,49	20,39	3,[illegible]
			10′—1h	54	871,31	119,36	21,5	23	0,59	20,29	4,[illegible]
			1h—2	56	778,65	119,43	21,8	24	0,70	20,18	5,2[illegible]
			2 —3	55	1117,02	119,53	22,0	24	0,63	20,25	6,7[illegible]
			3 —4	57	952,45	119,58	22,4	24	0,65	20,23	5,[illegible]
			4 —5	56	928,76	119,63	22,6	24	0,58	20,30	5,1[illegible]
7	11. VII.	11,00		57	994,74	116,93	19,8	23	0,51	20,39	4,[illegible]
				53	944,93	117,05	20,0	23	0,52	20,37	4,[illegible]
			10′—1h	53	1015,01	117,11	20,4	23	0,62	20,28	5,[illegible]
			1h—2	54	1018,64	117,15	20,6	23	0,56	20,36	5,[illegible]
			2 —3	57	998,49	117,23	20,8	23	0,57	20,33	5,[illegible]
			3 —4	53	1007,04	117,25	20,1	23	0,56	20,34	5,[illegible]
			4 —5	59	1028,74	117,34	21,2	23	0,57	20,33	5,[illegible]
9	15. VII.	11,30		55	918,57	116,98	22,2	24	0,53	20,37	4,[illegible]
				50	923,08	117,00	22,2	24	0,52	20,38	4,5[illegible]
			10′—1h	54	899,13	117,15	22,4	24	0,62	20,28	5,[illegible]
			1h—2	56	930,17	117,26	22,9	25	0,67	20,23	4,[illegible]
			2 —3	59	929,62	117,38	23,4	25	0,66	20,20	5,8[illegible]
			3 —4	59	929,07	117,45	23,3	25	0,61	20,29	5,3[illegible]
			4 —5	59	926,07	117,56	23,9	25	0,58	20,32	5,[illegible]

Hund 7 (♂).

itterung, mit der Fleischfütterung.

oduktion		O_2-Verbrauch			Respirationsquotient	Mittelwert der Respirationsquotienten	Kalorienbildung pro kg u. Min.	Proz. Steigerung			Bemerkungen
pro kg u. Min. ccm	Mittelwert pro kg u. Min. ccm	pro Std. Liter	pro kg u. Min. ccm	Mittelwert pro kg u. Min. ccm			cal	der CO_2-Bildung	des O_2-Verbr.	der Kalorienbildung	
5,519		4,637	7,026		0,786						Ruheumsatz
5,533	5,526	4,530	6,864	6,945	0,806	0,796	33,86				
7,310		5,925	8,977		0,894						250 g Pferdefleisch gegeben
8,413		6,472	9,806		0,858						
8,926		6,899	10,454		0,854						
8,422		6,690	10,136		0,831						
7,783	8,171	6,301	9,547	9,785	0,815	0,835	48,06	47,87	49,89	41,94	
7,325		5,959	9,029		0,811						
6,765	7,045	5,572	8,442	8,736	0,801	0,806	42,67				
8,256		6,599	9,999		0,826						Ebenso
9,346		7,068	10,709		0,873						
8,714		6,882	10,427		0,836						
8,614		6,589	9,983		0,863						
,035	8,593	6,402	9,700	10,164	0,828	0,845	50,01	20,70	17,72	17,16	
.953		5,561	8,581		0,810						
.193	7,073	5,814	8,972	8,777	0,802	0,806	42,87				
.590		6,346	9,793		0,877						Ebenso
.010		6,578	10,151		0,888						
.657		7,021	10,688		0,904						
.358		7,158	11,046		0,847						
.501	9,023	6,694	10,330	10,402	0,823	0,867	51,38	27,57	18,95	19,85	
.750		5,463	8,431		0,801						
.141	6,446	4,966	7,663	8,047	0,801	0,801	39,23				
.530		5,873	9,063		0,831						Ebenso
.051		6,105	9,421		0,855						
.343		7,976	12,308		0,840						
.113		6,991	10,789		0,845						
.883	8.583	6,167	9,517	10,220	0,825	0,840	50,20	33,17	27,00	27,97	
.235		5,660	8,576		0.844						
.015	7,125	5,585	8,461	8,519	0,829	0,836	41,84				
,074		6,892	10,442		0,869						Ebenso
.180		6,041	9,152		0.894						
.169		6,281	9,514		0,859						
.087		6,234	9,445		0.856						
.417	8.385	6,471	9,805	9.672	0,859	0,867	48,77	17.68	13,53	14,17	
.774		5,410	7,980		0,849						
.671	6.723	5,345	7,883	7,932	0,846	0,848	39,03				Ebenso
.824		6.105	9,005		0,869						
.780		6,781	10,001		0,878						
.638		6,796	10,023		0,862						
,948		6,215	9,167		0,867						
.512	8,060	5.918	8,728	9.385	0,861	0,859	46,27	19,89	18,32	18,55	

Tabelle XIV. Zusammengefaßte

Versuchs-Nr.	Rubeumsatz: CO_2-Bildung pro kg u. Min. ccm	Rubeumsatz: O_2-Verbrauch pro kg u. Min. ccm	Rubeumsatz: Respirationsquotient	Rubeumsatz: Kalorienbildung pro kg u. Min. cal	Nach de…: CO_2-Bildung pro kg u. Min. ccm
1	5,526	6,945	0,796	33,86	8,171
2	7,045	8.736	0,826	42,67	8,593
3	7,073	8,777	0,806	42,87	9,023
4	6,446	8,047	0,801	42,87	9,023
7	7,125	8,519	0,836	41,84	8,385
8	6,723	7,932	0,848	39,03	8,060
Mittelwert	6,657	8,159	0,816	39.92	8,470

Tabelle XV.

Die Versuche mit Rohr

Versuchs-Nr.	Datum 1924	Körpergewicht kg	Zeit nach der Zuckeraufnahme	Dauer des Versuchs Min.	Ventilation pro Std. in Liter reduziert	Thermobarograph	Zimmertemperatur °C	Temperatur im Kasten °C	Luftanalyse CO_2 Proz.	Luftanalyse O_2 Proz.	CO_2 pro Std. Liter
19	9. IX.	13,35		51	1125,20	115,43	19,2	26	0.53	20,34	[illegible]
				55	1103,66	115,45	19,3	26	0,44	20,46	[illegible]
			10′—1h	54	1151,88	115,56	19,8	26	0,67	20,25	[illegible]
			1h—2	55	1099,41	115,70	20,3	26	0.79	20,17	[illegible]
			2 —3	54	1159,59	115,75	20,5	26	0,66	20,30	[illegible]
			3 —4	55	1153,08	115,80	20,7	26	0,60	20,36	[illegible]
			4 —5	55	1156,81	115,71	20,4	26	0,55	20,41	[illegible]
20	11. IX.	13,20		57	1155,98	115,19	18,3	26	0,47	20.43	5,086
				54	1156,44	115,20	18,5	26	0,40	20.51	[illegible]
			10′—1h	53	1155,66	115,20	18,6	26	0,48	20,45	5,201
			1h—2	57	1155,43	115,23	18,9	26	0,77	20,21	8,550
			2 —3	55	1160,88	115,21	19,1	26	0,84	20,14	9,405
			3 —4	58	1163,81	115,11	19,0	26	0,63	20,33	6,985
			4 —5	55	1165,24	114,94	18,6	26	0,57	20,39	6,292
21	12. IX.	13,75		51	1141,04	114,42	17,0	26	0,47	20,43	5,021
				55	1157,85	114,57	17,2	26	0,48	20,42	5,210
			10′—1h	52	1160,29	114,66	17,6	26	0.64	20,32	7,078
			1h—2	55	1166,69	114,73	17,9	26	0,67	20,31	7,467
			2 —3	60	1169,71	114,74	18,0	26	0,68	20,30	7,603
			3 —4	58	1170,96	114,76	18,1	26	0,59	20,37	6,557
			4 —5	55	1171,78	114,79	18,3	26	0,50	20.44	5,507
22	13. IX.	13,40		55	1144,95	115,00	17,0	26	0.45	20,45	4,809
				55	1156,41	115,09	17,3	26	0,42	20,49	4,510
			10′—1h	55	1159,73	115,23	18,0	26	0,82	20,10	9,162
			1h—2	54	1158,53	115,28	18,3	26	0,71	20,27	7,878
			2 —3	57	1162,28	115,29	18,3	26	0,70	20,27	7,787
			3 —4	56	1162,90	115,26	18,4	26	0,69	20,28	7,675
			4 —5	56	1165,38	115,29	18,5	26	0,65	20.31	7,225

Übersicht der Tabelle XIII.

leischaufnahme			Proz. Steigerung der CO_2-Bildung	Proz. Steigerung des O_2-Verbrauchs	Proz. Steigerung der Kalorienbildung
O_2-Verbrauch pro kg u. Min. ccm	Respirationsquotient	Kalorienbildung pro kg u. Min. cal			
9,785	0,835	48,06	47,87	49,89	41,94
10,164	0,845	50,01	20,70	17,72	17,16
10,402	0,867	51,38	27,57	18,95	19,85
10,402	0,867	51,38	27,57	27,00	27,97
9,672	0,867	47,77	17,60	13,53	14,17
9,385	0,859	46,27	19,89	18,32	18,55
9,938	0,852	48,90	27,24	21,80	22,49

Hund 7 (♂).

zucker vor der Operation.

roduktion		O_2-Verbrauch			Respirationsquotient	Mittelwert der Respirationsquotienten	Kalorienbildung pro kg u. Min. cal	Proz. Steigerung			Bemerkungen
pro kg u. Min. ccm	Mittelwert pro kg u. Min. ccm	pro Std. Liter	pro kg u. Min. ccm	Mittelwert pro kg u. Min. ccm				der CO_2-Bildung	des O_2-Verbr.	der Kalorienbildung	
7,024		7,055	8,808		0,795						Ruheumsatz
5,649	6,337	5,507	6,876	7,842	0,821	0,808	38,30				
9,204		8,098	10,109		0,910						
10,431		8,498	10,610		0,983						70 g Rohrzucker gegeben
9,120		7,456	9,309		0,980						
8,206		6,723	8,393		0,978						
7,510	8,894	6,166	7,698	9,224	0,976	0,964	46,32	40,35	17,62	20,94	
6,422		6,115	7,721		0,832						
5,403	5,913	5,158	6,512	7,117	0,830	0,831	34,89				
6,566		5,790	7,310		0,898						
10,796		8,400	10,606		1,018						Ebenso
11,873		9,252	11,682		1,016						
8,817		7,134	9,008		0,979						
7,945	9,196	6,444	8,136	9,348	0,977	0,984	47,11	55,52	31,35	35,03	
6,086		6,036	7,317		0,832						
6,316	6,201	6,241	7,565	7,441	0,835	0,833	36,48				
8,579		7,229	8,762		0,979						
9,051		7,315	8,867		1,021						Ebenso
9,216		7,451	9,032		1,020						
7,948		6,710	8,133		0,977						
6,676	8,294	5,953	7,215	8,402	0,925	0,987	42,42	33,52	12,92	16,28	
5,981		5,828	7,249		0,825						
5,610	5,796	5,389	6,703	6,976	0,837	0,831	34,20				
11,395		9,870	12,276		0,928						
9,798		7,727	9,611		1,020						Ebenso
9,686		7,787	9,686		1,000						
9,546		7,675	9,546		1,000						
8,987	9,882	7,377	9,175	10,059	0,980	0,982	50,70	70,50	44,20	48,25	

Tabelle XVI. Zusammengefaßte

Versuchs-Nr.	Ruheumsatz				Nach der
	CO_2-Bildung pro kg u. Min. ccm	O_2-Verbrauch pro kg u. Min. ccm	Respirationsquotient	Kalorienbildung pro kg u. Min. cal	CO_2-Bildung pro kg u. Min. ccm
19	6,337	7,842	0,808	38,30	8,894
20	5,913	7,117	0,831	34,89	9,196
21	6,201	7,441	0,833	36,48	8,294
22	5,796	6,976	0,831	34,20	9,882
Mittelwert	6,062	7,344	0,825	35,97	9,067

Tabelle XVII. Hund 7 (♂). Vor der Operation.

Versuchs-Nr.	Datum 1924	Körpergewicht kg	Zeit nach der Fleischaufnahme	Dauer des Versuchs Min.	Ventilation pro Std. in Liter reduziert	Thermobarograph	Zimmertemperatur °C	Temperatur im Kasten °C	Luftanalyse CO_2 Proz.	Luftanalyse O_2 Proz.	CO_2- pro Std. Liter
	16. VII.[1] 17. VII.[2]										
9	18. VII.[3]	11,25		54	992,20	116,80	20,6	23	0,35	20.53	3.274
				59	1008,58	116,66	20,1	23	0,38	20.50	3.5[illegible]
				54	1014,26	116,67	20,4	23	0,43	20,45	4.057
			10′—1h	55	1011,38	116,60	20,0	23	0,42	20,48	3.944
			1h—2	50	1024,31	116,60	20,0	23	0,53	20,37	5.122
			2 —3	56	1021,24	116,77	20,3	23	0,51	20,37	4.902
			3 —4	63	1018,41	116,70	20,7	24	0,49	20.39	4,685
	19. VII.[4] 20. VII.[4]										
10	21. VII.[5]	11,00		52	1062,59	116,95	20,5	23	0,55	20,30	5.525
				55	973,09	117,04	20,7	23	0,54	20.31	4.968
				55	972,51	117,12	20,7	23	0,52	20,32	4.765
			10′—1h	54	974,51	117,21	21,3	23	0,59	20,25	5.457
			1h—2	60	980,48	117,29	21,5	23	0,62	20.20	5.785
			2 —3	58	981,61	117,40	21,9	24	0,73	20,29	6,871
			3 —4	59	979,45	117,43	22,2	24	0,58	20.26	5.387
	22. VII.[6]										
11	23. VII.	11,20		51	964,75	116,58	19,1	23	0,57	20.29	5.20[illegible]
				50	1012,78	116,59	19,2	23	0,54	20,32	5.165
				50	994,60	116,55	19,1	23	0,54	20,32	5.972
			10′—1h	57	996,14	116,45	18,8	23	0,61	20,25	5.778
			1h—2	51	996,89	116,48	18,8	23	0,68	20,17	6.48[illegible]
			2 —3	57	995,28	116,55	19,1	23	0,71	20,16	6.733
			3 —4	59	912,92	116,52	19,0	23	0,70	20,16	6.117
12	25. VII.	11,35		52	1124,00	116,00	18,5	25	0,41	20,47	4.271
				55	1131,80	116,05	18,9	25	0,45	20.43	4.754
				59	1132,08	116,06	19,0	26	0,41	20,48	4.302
			10′—1h	54	1134,94	116,11	19,3	26	0,43	20,47	4.540
			1h—2	55	1132,25	116,10	19,3	26	0,51	20,39	5.435
			2 —3	59	1129,65	116,13	19,6	26	0,55	20,34	5.874
			3 —4	57	1129,21	116,15	20,0	26	0,54	20.36	5.759

[1]) 6, [2]) 9, [3]) 11, [4]) 12, [5]) 10, [6]) 7 Schilddrüsentabletten gegeben.

bersicht der Tabelle XV.

hrzuckeraufnahme			Proz. Steigerung der CO_2-Bildung	Proz. Steigerung des O_2-Verbrauchs	Proz. Steigerung der Kalorienbildung
O_2-Verbrauch ro kg u. Min. ccm	Respirationsquotient	Kalorienbildung pro kg u. Min. cal			
9,224	0,964	46,32	40,35	17,62	20,94
9,348	0,984	47,11	55,52	31,35	35,03
8,402	0,987	42,42	33,52	12,92	16,28
10,059	0,982	50,70	70,50	44,20	48,25
9.258	0,979	46,64	49,57	26,06	29,66

it Schilddrüsenfütterung und Fleisch.

duktion		O_2-Verbrauch			Respirationsquotient	Mittelwert der Respirationsquotienten	Kalorienbildung pro kg u. Min.	Proz. Steigerung			Bemerkungen
ro kg Min. ccm	Mittelwert pro kg u. Min. ccm	pro Std. Liter	pro kg u. Min. ccm	Mittelwert pro kg u. Min. ccm			cal	der CO_2-Bildung	des O_2-Verbr.	der Kalorienbildung	
.851		4,306	6,380		0,760						Ruheumsatz
.230		4,680	6,933		0,754						
.010	5.230	5,213	7,723	7,012	0,778	0,746	33,86				250 g Fleisch gegeben
.844		4,845	7,177		0,814						
.588		6,033	8,938		0,849						
.262		6,066	8,987		0,804						
.941	6,909	5,846	8,661	8,441	0,801	0,819	41,30	32,10	20,36	21,97	
.372		7,141	10,819		0,774						Ruheumsatz
.519		6,442	9,760		0,770						
.220	7,704	6,360	9,637	10,072	0,749	0,765	48,82				250 g Pferdefleisch gegeben
.269		7,055	10,690		0,773						
.765		7,648	11,588		0,756						
.411		9,532	14,442		0,721						
.162	8,902	6,993	10,596	11,825	0,770	0,753	57,10	15,55	17,40	16,96	
.751		6,551	9,748		0,795						Ebenso
.686		6,573	9,781		0,786						
,548	7,662	6,455	9,606	9,712	0,786	0.789	47,26				
.598		7,162	10,658		0,807						
,643		7,995	11,897		0,810						
.071		8,032	11,952		0,843						
.102	9.356	7,386	10,990	11,374	0,828	0,823	55,66	22,11	17,11	17,78	
.272		5,328	7,824		0,802						Ebenso
.980		6,044	8,875		0,787						
.317	6,523	5,445	7,996	8,232	0,790	0,792	40,05				
.666		5,550	8,150		0,818						
.981		6,443	9,460		0,844						
.626		7.014	10,300		0.837						
.457	7.933	6,764	9,932	9,461	0.846	0,839	46,47	21,62	15,03	16.03	

Tabelle XVI

Versuchs-Nr.	Datum 1924	Körpergewicht kg	Zeit nach der Zuckeraufnahme	Dauer des Versuchs Min.	Ventilation pro Std. in Liter reduziert	Thermobarograph	Zimmertemperatur °C	Temperatur im Kasten °C	Luftanalyse CO₂ Proz.	Luftanalyse O₂ Proz.	CO₂ pro Std. Liter
13	28. VII.	11,10		56	939,69	116,30	17,9	26	0,52	20,36	4,[illegible]
				56	946,49	116,37	18,1	26	0,44	20,46	3,881
				57	978,37	116,52	18,6	26	0,44	20,46	4,011
			10'—1h	55	984,25	116,60	19,0	26	0,49	20,42	4,52[illegible]
			1h—2	61	980,91	116,62	19,1	26	0,62	20,26	5,78[illegible]
			2 —3	55	991,31	116,65	19,4	26	0,64	20,24	6,047
			3 —4	55	989,44	116,65	19,5	26	0,59	20,30	5,541
14	30. VII.	11,10		57	937,94	116,83	18,0	25	0,54	20,33	4,78[illegible]
				54	934,72	116,85	18,2	25	0,46	20,44	4,01[illegible]
			10'—1h	55	966,96	116,88	18,5	25	0,49	20,43	4,44[illegible]
			1h—2	57	968,40	116,85	18,6	25	0,60	20,31	5,52[illegible]
			2 —3	56	970,36	116,82	18,7	25	0,59	20,31	5,434
			3 —4	57	968,65	116,82	18,9	25	0,62	20,26	5,715
			4 —5	57	966,11	116,80	19,1	25	0,63	20,25	5,797
15	1. VIII.	11,10		52	956,47	117,50	19,1	25	0,48	20,42	4,[illegible]
				54	970,29	117,49	19,2	25	0,49	20,41	4,[illegible]
			10'—1h	53	974,91	117,63	19,7	25	0,50	20,40	4,582
			1h—2	57	978,82	117,65	20,1	25	0,61	20,28	5,67[illegible]
			2 —3	58	978,64	117,65	20,1	25	0,61	20,28	5,676
			3 —4	58	980,24	117,67	20,4	25	0,67	20,21	6,274
			4 —5	57	981,61	117,74	20,6	25	0,64	20,24	5,988
16	4. VIII.	11,10		55	759,27	117,96	18,9	25	0,48	20,39	3,417
				54	964,09	117,90	19,0	25	0,41	20,47	3,[illegible]
			10'—1h	55	965,07	117,90	19,3	25	0,47	20,41	4,241
			1h—2	56	969,94	117,87	19,5	25	0,59	20,29	5,[illegible]
			2 —3	53	973,51	117,80	19,6	25	0,62	20,26	5,744
			3 —4	62	971,60	117,73	19,6	25	0,60	20,27	5,5[illegible]
			4 —5	57	964,75	117,62	19,5	25	0,62	20,24	5,[illegible]
17	6. VIII.	11,10		55	967,04	116,08	19,9	25	0,45	20,42	4,0[illegible]
				55	978,05	116,10	20,0	25	0,41	20,47	3,71[illegible]
			10'—1h	54	981,24	116,18	20,4	25	0,47	20,43	4,31[illegible]
			1h—2	59	987,22	116,30	20,7	25	0,56	20,32	5,2[illegible]
			2 —3	57	982,52	116,35	20,9	25	0,63	20,25	5,8[illegible]
			3 —4	60	974,23	116,40	21,0	25	0,61	20,27	5,6[illegible]
			4 —5	55	966,09	116,42	21,1	25	0,63	20,24	5,79[illegible]
18	7. VIII.	11,10		54	758,94	116,39	20,8	26	0,57	20,30	4,0[illegible]
				56	763,07	116,40	20,8	26	0,54	20,34	3,89[illegible]
			10'—1h	56	814,41	116,43	21,0	26	0,63	20,26	4,88[illegible]
			1h—2	54	875,46	116,51	21,2	26	0,66	20,22	5,51[illegible]
			2 —3	59	882,41	116,63	21,4	26	0,73	20,14	6,17[illegible]
			3 —4	60	956,75	116,75	21,7	26	0,62	20,25	5,64[illegible]
			4 —5	56	965,77	116,82	21,9	26	0,63	20,25	5,79[illegible]

(Fortsetzung).

roduktion		O_2-Verbrauch			Respirationsquotient	Mittelwert der Respirationsquotienten	Kalorienbildung pro kg u. Min.	Proz. Steigerung			Bemerkungen
pro kg u. Min.	Mittelwert pro kg u. Min.	pro Std.	pro kg u. Min.	Mittelwert pro kg u. Min.				der CO_2-Bildung	des O_2-Verbr.	der Kalorienbildung	
ccm	ccm	Liter	ccm	ccm			cal				
6.914		5,676	8,522		0,811						Ruheumsatz
5.827		4,723	7,092		0,822						
6.023	6,255	4,882	7,331	7,648	0,822	0,818	37,42				250 g Pferdefleisch gegeben
6.798		5,276	7,921		0,858						
8.690		6,906	10,369		0,838						
9.080		7,157	10,747		0,845						
8.320	8,222	6,540	9,820	9,714	0,847	0.846	47,80	31,45	27,01	27,74	
7.182		5,751	8.605		0,835						Ebenso
6.035	6,609	4,851	7,284	7,945	0,829	0,832	38,95				
6.679		5,057	7,593		0,880						
8.288		6,256	9,393		0,882						
8,159		6,298	9,456		0,863						
8.581		6,819	10,239		0,838						
8.704	8,084	6,898	10,357	9,408	0,840	0,859	46,38	22,32	18,84	19,08	
5.978		5,155	7,160		0,835						Ebenso
6.199	6,085	5,327	7,399	7,280	0,838	0,836	35,76				
6.364		5,450	7,569		0,841						
7.885		6,666	9,258		0,852						
7,884		6,665	9,256		0,852						
8.713		7,391	10,265		0,849						
8.317	7.833	7,107	9,871	9,244	0,843	0,847	45.49	28,64	26.98	27,21	
5.130		4,381	6,576		0,780						Ebenso
5.501	5,316	4,763	7,151	6,865	0.769	0,774	33,28				
8.376		5,347	8,025		0,794						
8.156		6,537	9,816		0,851						
8.624		6,854	10,291		0,838						
8.316		6,772	10,168		0,818						
8.547	8,004	7,033	10,560	9,773	0,809	0,819	47,82	50,56	42,36	43,69	
6.090		3,290	7,943		0,768						Ebenso
5.581	5,840	4,832	7,255	7.554	0,769	0,773	36,62				
6.483		5,191	7,794		0,832						
7.856		6,358	9,546		0,823						
8.852		7,015	10,533		0,840						
8,484		6,761	10,152		0,836						
8.704	8,076	7,024	10,522	9,711	0,827	0,832	47,61	38,29	28,55	30,01	
6.154		5,062	7,601		0.810						Ebenso
5.843	5,999	4,762	7,150	7,376	0,817	0.813	36,02				
7.337		5,705	8,566		0,857						
8,281		6,513	9,780		0,847						
9,275		7,298	10,957		0,846						
8.476		6,860	10,300		0.823						
8.701	8,414	6,696	10,354	9,991	0,840	0,842	49,07	40.26	35,45	36,23	

Tabelle XVIII. Zusammengefaßt[...]

Versuchs-Nr.	Ruheumsatz				Nach d[...]
	CO_2-Bildung pro kg u. Min. ccm	O_2-Verbrauch pro kg u. Min. ccm	Respirations-quotient	Kalorienbildung pro kg u. Min. cal	CO_2-Bildung pro kg u. Min. ccm
9	5,230	7,012	0,746	33,86	6,909
10	7,704	10,072	0,765	48,82	8,902
11	7,662	9,712	0,789	47,26	9,356
12	6,255	7,648	0,792	40,05	7,933
13	6,255	7,648	0,818	37,42	8,222
14	6,609	7,945	0,852	38,95	8,084
15	6,085	7,280	0,836	35,76	7,833
16	5,316	6,865	0,774	33,28	8,004
17	5,840	7,554	0,773	36,62	8,076
18	5,999	7,376	0,813	36,02	8,414
Mittelwert	6,322	7,970	0,793	38,78	8.173

Tabelle XIX. Hund 7 (♂). Die Versuche mit Fleisch nach de[...]

Versuchs-Nr.	Datum 1924	Körpergewicht kg	Zeit nach der Fleischaufnahme	Dauer des Versuchs Min.	Ventilation pro Std. in Liter reduziert	Thermobarograph	Zimmertemperatur °C	Temperatur im Kasten °C	Luftanalyse CO_2 Proz.	Luftanalyse O_2 Proz.	CO_2[...] pro Std. Liter
23	30. X.	10,50		55	969,01	116,97	19,2	26	0,38	20,52	3,392
				53	986,98	116,88	19,2	26	0,40	20,50	3,652
			10′—1h	53	1023,28	116,85	19,2	26	0,41	20,53	3,888
			1h—2	57	1002,93	116,92	19,6	26	0,59	20,31	5,616
			2 —3	58	1013,56	117,17	20,3	26	0,59	20,31	5,676
			3 —4	57	1017,14	117,15	20,6	26	0,62	20,28	6,001
			4 —5	60	1017,93	117,10	20,6	26	0,65	20.23	6,311
24	4. XI.	10,40		57	967,00	117,02	19,3	26	0,42	20,46	3.771
				57	976,74	116,93	19,3	26	0,42	20,47	3,809
			10′—1h	53	977,85	116,93	19,4	26	0,45	20,43	4.107
			1h—2	54	980,05	117,00	19,6	26	0,60	20,30	5.596
			2 —3	57	958,51	116,95	19,6	26	0,62	20.26	5.655
			3 —4	55	997,85	116,87	19,4	26	0,65	20,21	6.187
			4 —5	54	958,66	116,83	19,4	26	0,64	20.22	5.848
25	6. XI.	10,40		53	918,93	115,68	19,4	26	0,42	20.48	3,583
				58	920,99	115,58	19,2	26	0,44	20,46	3.776
			10′—1h	55	923,63	115,63	19,3	26	0,46	20,44	3,972
			1h—2	53	924,80	115,68	19,3	26	0,61	20,29	5,364
			2 —3	55	923,48	115,65	19,3	26	0,62	20,27	5,449
			3 —4	57	926,06	115,60	19,3	26	0,67	20,20	5,927
			4 —5	55	923,87	115,67	19,3	26	0,67	20.19	5.913
26	8. XI.	10,40		58	969,19	116,45	19,6	26	0,43	20,46	3.877
				53	920,66	116,20	18,9	26	0,43	20,47	3.683
			10′—1h	55	975,43	116,20	19,0	26	0,48	20,41	4.39[...]
			1h—2	55	974,91	116,15	19,0	26	0,61	20,28	4.655
			2 —3	55	974.65	116,07	18,8	26	0,59	20,29	5,458
			3 —4	56	974.44	116,00	18.6	26	0,59	20.31	5,457
			4 —5	54	974.56	115,95	18,7	26	0,63	20,24	5,847

bersicht der Tabelle XVII.

[illegible]chaufnahme					
O_2-Verbrauch pro kg u. Min. ccm	Respirationsquotient	Kalorienbildung pro kg u. Min. cal	Proz. Steigerung der CO_2-Bildung	Proz. Steigerung des O_2-Verbrauchs	Proz. Steigerung der Kalorienbildung
8,441	0,819	41,30	32,10	20,38	21,97
11,825	0,753	57,10	15,55	17,40	16,96
11,374	0,823	55,66	22,11	17,11	17,78
9,461	0,839	46,47	21,62	15,03	16,03
9,714	0,846	47,80	31,45	27,01	27,74
9,408	0,859	46,38	22,32	18,84	19,08
9,244	0,847	45,49	28,64	26,98	27,21
9,773	0,819	47,82	50,56	42,36	43,69
9,711	0,832	47,61	38,29	28,55	30,01
9,991	0,842	49,07	40,26	35,45	36,23
9,894	0,826	48,51	29,28	24,14	25,09

[illegible]iderseitigen Splanchniektomie (22. IX. links, 21. X. rechts operiert).

[illegible]uktion		O_2-Verbrauch						Proz. Steigerung			
[illegible]o kg u. Min. ccm	Mittelwert pro kg u. Min. ccm	pro Std. Liter	pro kg u. Min. ccm	Mittelwert pro kg u. Min. ccm	Respirationsquotient	Mittelwert der Respirationsquotienten	Kalorienbildung pro kg u. Min. cal	der CO_2-Bildung	des O_2-Verbr.	der Kalorienbildung	Bemerkungen
[illegible]383		4,254	6,742		0,797						Ruheumsatz
5.797	5,590	4,530	7,191	6,972	0,806	0,802	33,99				
5.171		4,277	6,788		0,909						
8.915		6,509	10,332		0,863						
9,010		6,518	10,441		0,863						238 g Pferdefleisch gegeben
9.526		6,906	10,963		0,869						
9,018	8,728	7,472	11,860	10,077	0,845	0,866	49,77	56,14	44,54	46,43	
6,044		4,874	7,810		0,774						
6.105	6,075	4,796	7,686	7,748	0,794	0,784	37,63				
6,582		5,222	8,368		0,787						
8,953		6,459	10,350		0,865						Ebenso
9.063		6,748	10,815		0,838						
9.915		7,574	12,137		0,817						
9,372	8,777	7,180	11,507	10,635	0,814	0,825	52,14	44,48	37,26	38,56	
5,743		4,402	7,054		0,814						
6,051	5,897	4,596	7,365	7,210	0,822	0,818	35,28				
6,365		4,794	7,682		0,829						
8.596		6,187	9,915		0,867						Ebenso
8.732		6,381	10,226		0,854						
9,498		7,103	11,383		0,834						
9.476	8,533	7,197	11,564	10,148	0,822	0,841	49,84	44,70	40,75	41,27	
6,213		4,856	7,782		0,798						
5,902	6,058	4,502	7,215	7,499	0,818	0,810	36,63				
7.034		5,375	8,613		0,817						
9,062		6,639	10,640		0,852						Ebenso
8,747		6,569	10,527		0,831						
8,745		6,344	10,166		0,860						
9.371	8,592	7,085	11,354	10,260	0,825	0,837	50,39	41,83	36,82	37,57	

Tabelle XX. Zusammengefaßte

Versuchs-Nr.	Ruheumsatz: CO_2-Bildung pro kg u. Min. ccm	O_2-Verbrauch pro kg u. Min. ccm	Respirationsquotient	Kalorienbildung pro kg u. Min. cal	Nach de[m]: CO_2-Bildung pro kg u. Min. ccm
23	5,590	6,972	0,802	33,99	8,728
24	6,075	7,748	0,784	37,63	8,777
25	5,897	7,210	0,818	35,28	8,533
26	6,058	7,499	0,810	36,63	8,592
Mittelwert	5,905	7,357	0,803	35,88	8,658

Tabelle XXI:

Die Versuche mit Rohrzucker nach der beiderseitigen

Versuchs-Nr.	Datum 1924	Körpergewicht kg	Zeit nach der Zuckeraufnahme	Dauer des Versuchs Min.	Ventilation pro Std. in Liter reduziert	Thermobarograph	Zimmertemperatur °C	Temperatur im Kasten °C	Luftanalyse: CO_2 Proz.	Luftanalyse: O_2 Proz.	CO_2 pro Std. Liter
27	10. XI.	10,40		50	905,78	116,85	18,9	26	0,43	20,47	3,623
				54	907,75	116,65	18,5	26	0,41	20,48	3,449
			10'—1h	54	923,62	116,45	18,0	26	0,52	20,42	4,526
			1h—2	54	893,84	116,60	18,8	26	0,64	20,28	5,453
			2 —3	56	906,21	117,05	19,9	26	0,70	20,21	6,072
			3 —4	56	933,90	117,25	20,9	26	0,60	20,36	5,323
			4 —5	57	907,78	117,00	20,4	26	0,54	20,42	4,630
28	12. XI.	10,80		53	916,37	115,88	18,6	26	0,45	20,45	3,849
				57	921,85	115,90	18,7	26	0,45	20,45	3,872
			10'—1h	57	906,17	115,93	18,9	26	0,54	20,37	4,622
			1h—2	54	850,35	116,03	19,1	26	0,72	20,24	5,867
			2 —3	55	950,86	116,45	20,3	26	0,71	20,27	6,466
			3 —4	53	933,38	116,80	20,0	26	0,62	20,38	5,507
			4 —5	57	929,85	116,60	20,4	26	0,54	20,42	5,742
29	14. XI.	10,75		55	953,89	116,05	18,3	26	0,40	20,50	3,529
				52	953,67	116,03	18,1	26	0,43	20,47	3,815
			10'—1h	56	981,58	116,03	18,1	26	0,53	20,41	4,908
			1h—2	55	979,26	116,08	18,4	26	0,62	20,30	5,778
			2 —3	54	970,37	116,45	19,5	26	0,70	20,26	6,502
			3 —4	55	1020,36	116,75	20,3	26	0,59	20,38	5,714
			4 —5	55	961,91	115,70	20,1	26	0,53	20,42	4,816
30	17. XI.	10,80		57	1041,35	116,65	17,3	26	0,44	20,44	4,270
				55	991,14	117,00	18,6	26	0,45	20,43	4,204
			10'—1h	53	1003,41	117,25	19,7	26	0,61	20,33	5,818
			1h—2	55	1016,94	117,25	19,8	26	0,73	20,25	7,119
			2 —3	54	1039,68	117,13	19,7	26	0,67	20,28	6,654
			3 —4	52	1014,12	116,85	19,4	26	0,54	20,40	5,172
			4 —5	57	1047,21	116,50	18,6	26	0,53	20,39	5,236

·bersicht der Tabelle XIX.

:ischaufnahme			Proz. Steigerung der CO_2-Bildung	Proz. Steigerung des O_2-Verbrauchs	Proz. Steigerung der Kalorienbildung
O_2-Verbrauch ›ro kg u. Min. ccm	Respirationsquotient	Kalorienbildung pro kg u. Min. cal			
10,077	0,866	46,77	56,14	44,14	46,43
10,635	0,825	52,14	44,48	37,26	38,56
10,148	0,841	49,84	44,70	40,75	41,27
10,260	0,837	50,39	41,83	36,82	37,57
10,280	0,846	49,79	46,79	39,74	40,96

und 7 (b).

›lanchniektomie (22. IX. links, 21. X. rechts operiert).

luktion		O_2-Verbrauch			Respirationsquotient	Mittelwert der Respirationsquotienten	Kalorienbildung pro kg u. Min. cal	Proz. Steigerung			Bemerkungen
o kg Min. cm	Mittelwert pro kg u. Min. ccm	pro Std. Liter	pro kg u. Min. ccm	Mittelwert pro kg u. Min. ccm				der CO_2-Bildung	des O_2-Verbr.	der Kalorienbildung	
.806		4,429	7,095		0,818						Ruheumsatz
.528	5,667	4,366	6,997	7,048	0,790	0,804	34,36				
253		4,877	7,815		0,928						
.738		6,016	9,640		0,906						65 g Rohrzucker gegeben
730		6,760	10,834		0,878						
531		5,445	8,725		0,978						
419	8,334	5,100	7,609	8,925	0,975	0,934	44,57	47,06	26,63	29,72	
939		4,644	7,198		0,825						Ruheumsatz
975	5,957	4,692	7,241	7,220	0,825	0,825	35,40				
132		5,310	8,195		0,870						
055		5,978	9,225		0,982						65 g Rohrzucker gegeben
978		6,342	9,787		1,020						
498		8,152	7,951		1,069						
318	8,396	4,863	7,505	8,533	0,975	0,984	43,01	40,94	18,19	21,50	
472		4,378	6,788		0,806						
914	5,693	4,606	7,141	6,965	0,828	0,817	34,08				
609		5,281	8,188		0,929						
957		6,444	9,990		0,897						Ebenso
080		6,628	10,275		0,981						
859		5,714	8,859		1,000						
457	8,592	5,060	7,844	9,031	0,951	0,951	45,27	50,92	29,66	32,80	
589		5,457	8,421		0,782						
488	6,539	5,293	8,168	8,295	0,794	0,788	40,36				
979		6,200	9,567		0,939						
985		6,986	10,781		1,019						Ebenso
268		6,893	10,637		0,965						
982		5,557	8,576		0,931						
080	9,259	5,896	9,099	9,758	0,888	0,949	48,91	41,60	17,64	21,18	

Tabelle XXII. **Zusammengefaßt**

Versuchs-Nr.	Ruheumsatz: CO_2-Bildung pro kg u. Min. ccm	Ruheumsatz: O_2-Verbrauch pro kg u. Min. ccm	Ruheumsatz: Respirationsquotient	Ruheumsatz: Kalorienbildung pro kg u. Min. cal	Nach d…: CO_2-Bildung pro kg u. Min. ccm
27	5,667	7,048	0,804	34,35	8,334
28	5,957	7,220	0,825	35,40	8,396
29	5,693	6,965	0,817	34,08	8,592
30	6,539	8,295	0,788	40,36	9,259
Mittelwert	5,964	7,360	0,810	36,05	8,645

Tabelle XXIII. **Hund 7 (♂). Die Versuche mit Schilddrüsenfütterung und Fleisch**

Versuchs-Nr.	Datum 1924	Körpergewicht 1924	Zeit nach der Fleischaufnahme	Dauer des Versuchs Min.	Ventilation pro Std. in Liter reduziert	Thermobarograph	Zimmertemperatur °C	Temperatur im Kasten °C	Luftanalyse CO_2 Proz.	Luftanalyse O_2 Proz.	CO_2 pro Std Liter
	17. XI.[1]										
	18. XI.[2]										
31	19. XI.[3]	10,90		53	952,20	115,68	19,7	26	0,50	20,36	4,475
				58	970,95	115,60	19,7	26	0,45	20,42	4,078
				55	950,83	115,65	19,6	26	0,50	20,36	4,469
			10′—1h	51	963,72	115,85	20,3	26	0,57	20,28	5,204
			1h—2	56	971,26	116,05	20,8	26	0,76	20,12	6,507
			2 —3	55	1067,14	116,13	21,0	26	0,67	20,22	6,830
			3 —4	55	1039,18	116,00	21,0	26	0,67	20,20	6,651
	20. XI.[4]										
32	21. XI.[4]	10,90		55	1048,50	116,53	21,1	26	0,45	20,47	4,404
				55	1097,00	116,45	20,9	26	0,48	20,42	4,937
				57	1099,31	116,15	20,4	26	0,45	20,46	4,617
			10′—1h	55	1089,68	115,93	20,0	26	0,54	20,36	5,557
			1h—2	55	1003,45	116,00	19,9	26	0,71	20,17	6,823
			2 —3	55	1025,75	116,13	20,2	26	0,74	20,12	7,290
			3 —4	56	1028,94	116,00	20,0	26	0,67	20,18	6,585
	22. XI.[5]										
	23. XI.[6]										
33	24. XI.	10,80		50	1097,78	117,40	17,5	26	0,51	20,39	5,269
				51	1157,17	117,63	18,4	26	0,42	20,50	4,513
				51	1161,00	117,85	19,3	26	0,45	20,47	4,876
			10′—1h	54	1162,02	117,80	19,5	26	0,51	20,42	5,576
			1h—2	57	1093,49	117,73	19,6	26	0,64	20,28	6,670
			2 —3	52	1037,45	117,83	20,0	26	0,71	20,17	7,053
			3 —4	58	1032,46	117,63	20,0	26	0,70	20,18	6,918
34	25. XI.	10,80		51	1043,15	116,33	18,9	26	0,46	20,44	4,384
				57	1023,64	116,20	17,5	26	0,42	20,48	3,992
				58	1043,57	116,18	17,4	26	0,46	20,44	4,385
			10′—1h	56	1047,95	116,35	17,9	26	0,60	20,28	5,973
			1h—2	54	1025,42	116,70	19,1	26	0,68	20,20	6,665
			2 —3	53	1042,51	116,95	19,9	26	0,66	20,20	6,568
			3 —4	57	1037,36	117,20	20,6	26	0,70	20,17	6,950
35	27. XI.	10,70		53	1156,91	116,25	18,8	26	0,44	20,46	4,743
				51	1167,85	116,05	18,3	26	0,42	20,48	4,55
				60	1176,07	116,15	18,9	26	0,42	20,46	4,58
			10′—1h	56	1049,52	116,38	19,6	26	0,52	20,38	5,14
			1h—2	54	1053,29	116,25	19,3	26	0,61	20,27	6,10
			2 —3	57	1053,08	116,15	19,1	26	0,63	20,25	6,31
			3 —4	54	1052,76	116,10	19,0	26	0,64	20,24	6,42

[1] 6. [2] 9. [3] 11. [4] 12. [5] 10. [6] 7 Schilddrüsentabletten gegeben.

Übersicht der Tabelle XXI.

ohrzuckeraufnahme			Proz. Steigerung der CO_2-Bildung	Proz. Steigerung des O_2-Verbrauchs	Proz. Steigerung der Kalorienbildung
O_2-Verbrauch pro kg u. Min. ccm	Respirationsquotient	Kalorienbildung pro kg u. Min. cal			
8,925	0,934	44,57	47,06	26,63	29,72
8,533	0,984	43,01	40,94	18,19	21,50
9,031	0,951	45,27	50,92	29,66	32,80
9,758	0,949	48,91	41,60	17,64	21,18
9,062	0,954	45,39	45,13	23,03	26,30

ach der beiderseitigen Splanchniektomie (22. IX. links, 21. X. rechts operiert).

oduktion		O_2-Verbrauch			Respirationsquotient	Mittelwert der Respirationsquotienten	Kalorienbildung pro kg u. Min. cal	Proz. Steigerung			Bemerkungen
pro kg u. Min. ccm	Mittelwert pro kg u. Min. ccm	pro Std. Liter	pro kg u. Min. ccm	Mittelwert pro kg u. Min. ccm				der CO_2-Bildung	des O_2-Verbr.	der Kalorienbildung	
6,843		5,799	8,867		0,772						Ruheumsatz
6.235		5,311	8,121		0,768						
6.828	6,635	5,791	8,854	8,614	0,772	0,770	41,76				250 g Pferdefleisch gegeben
7,957		6,669	10,197		0,780						
9.950		8,197	12,534		0,794						
0.443		8,598	12,091		0,864						
0.169	9,630	8,373	12,187	11,752	0,834	0,819	57,51	45,14	36,43	37,72	
5.734		5,064	9,640		0,844						
7.548		5,913	9,041		0,835						
7,060	7,114	5,453	8,337	8,374	0,947	0,850	41,21				Ebenso
8,501		6,527	9,981		0,851						
0.433		7,967	12,183		0,856						
1.148		8,717	13,329		0,836						
0.069	10,038	8,149	12,461	11,989	0.806	0,837	58,87	41,10	43,17	42,86	
8,132		6,246	9,640		0,844						
6,964		5,242	8,073		0,861						
7.525	7.540	5,608	8,654	8,789	0,870	0,858	43,33				Ebenso
8,608		6,171	9,522		0,904						
0.294		7,425	11,458		0,898						
0.887		8.232	12,712		0,856						
0.675	10,116	8,095	12,492	11,546	0,855	0,876	57.13	34,17	31,37	31,85	
6.765		5,414	8,355		0,810						
6.162		4,903	7,567		0,817						
6.767	6,564	5,416	8,358	8,093	0,810	0,811	39,53				Ebenso
9.218		7.168	11,062		0,833						
0.286		7,834	12,090		0,851						
0.136		8,017	12,372		0,819						
0.481	10,030	8,268	12,759	12,071	0,822	0,831	59,18	52,80	49,15	49,71	
7.388		5,773	8,992		0,822						
7.094		5,594	8,713		0,814						
7.144	7,209	5,633	8,775	8,827	0,814	0,817	43,19				Ebenso
8,010		6,077	9,465		0,846						
9,516		7,310	11,386		0,836						
9.842		7,519	11,712		0,840						
0,003	9,343	7,622	11,872	11,109	0,843	0,841	54,56	29,60	25,85	26,32	

Tabelle XXIII.

Versuchs-Nr.	Datum 1924	Körpergewicht kg	Zeit nach der Fleischaufnahme	Dauer des Versuchs Min.	Ventilation pro Std. in Liter reduziert	Thermobarograph	Zimmertemperatur °C	Temperatur im Kasten °C	Luftanalyse CO_2 Proz.	Luftanalyse O_2 Proz.	CO_2 pro Std. Liter
36	28. XI.	11,10		55	1001,54	116,33	18,2	26	0,47	20,43	4.407
				60	1027,72	116,18	18,0	26	0,46	20,44	4.419
				56	1046,24	116,13	18,1	26	0,48	20,42	4.708
			10′—1h	56	1051,78	116,13	18,2	26	0,52	20,40	5.154
			1h—2	56	1050,42	116,28	18,7	26	0,63	20,26	6,303
			2 —3	53	1047,17	116,38	19,2	26	0,66	20,22	6.597
			3 —4	54	1052,33	116,25	18,9	26	0,70	20.17	7.051
37	2. XII.	10,07		52	1042,12	116,70	17,4	26	0,38	20,52	3,647
				50	1039,00	116,50	17,4	26	0,40	20,50	3.844
			10′—1h	57	1042,24	116,45	17,1	26	0,47	20,44	4,586
			1h—2	55	1042,70	116,55	17,3	26	0,57	20,35	5,631
			2 —3	57	1044,70	116,78	18,0	26	0,56	20,35	5.537
			3 —4	53	1038,68	116,73	18,0	26	0,55	20,35	5,401
			4 —5	55	1042,48	116,68	18,0	26	0,59	20,29	5,838
38	3. XII.	10,65		54	1002,66	116,80	17,8	26	0,44	20,46	4.111
				57	931,87	116,80	18,0	26	0,43	20,46	3.728
			10′—1h	54	942,73	116,80	18,4	26	0,49	20,41	4.337
			1h—2	55	1120,77	116,90	18,7	26	0,51	20,39	3.380
			2 —3	56	1067,45	116,83	18,8	26	0,54	20,38	5.954
			3 —4	54	1166,78	116,75	19,1	26	0,59	20,31	6,534
			4 —5	59	1067,02	116,55	18,8	26	0,60	20,28	6.048
39	5. XII.	10,70		55	935,20	116,30	17,2	26	0,44	20,46	3.834
				55	938,95	116,30	17,2	26	0,44	20,47	3.850
			10′—1h	57	937,83	116,30	17,4	26	0,51	20,39	4.718
			1h—2	59	986,82	116,45	18,1	26	0,55	20,35	5.132
			2 —3	54	987,97	116,85	19,4	26	0,60	20,30	5.631
			3 —4	55	987,70	116,95	19,9	26	0,53	20,37	4,949
			4 —5	56	992,05	116,75	19,5	26	0,63	20,26	5.992

Tabelle XXIV. Zusammengefaßte

Versuchs-Nr.	Ruheumsatz CO_2-Bildung pro kg u. Min. ccm	Ruheumsatz O_2-Verbrauch pro kg u. Min. ccm	Ruheumsatz Respirationsquotient	Ruheumsatz Kalorienbildung pro kg u. Min. cal	Nach de[r] CO_2-Bildung pro kg u. Min. ccm
31	6,635	8,614	0,770	**41,76**	9,630
32	7,114	8,374	0,850	**41,21**	10,036
33	7,540	8,789	0,858	**43,33**	10,116
34	6,564	8,093	0,811	**39,53**	10,030
35	7,209	8,827	0,817	**43,19**	9,343
36	6,774	8,133	0,833	**39,87**	9,426
37	5,835	7,277	0,802	**35,47**	8,409
38	6,133	7,568	0,810	**36,96**	8,842
39	5,985	7,189	0,833	**35,24**	8,217
Mittelwert	6,647	8,207	0,810	**39,52**	9,339

ortsetzung).

duktion		O_2-Verbrauch			Respirationsquotient	Mittelwert der Respirationsquotienten	Kalorienbildung pro kg u. Min. cal	Proz. Steigerung			Bemerkungen
kg Min. m	Mittelwert pro kg u. Min. ccm	pro Std. Liter	pro kg u. Min. ccm	Mittelwert pro kg u. Min. ccm				der CO_2-Bildung	des O_2-Verbr.	der Kalorienbildung	
617		5,298	7,955		0,832						Ruheumsatz
635		5,334	8,009		0,829						
069	6,774	5,639	8,467	8,133	0,835	0,833	39,87				250 g Pferdefleisch gegeben
738		5,816	8,733		0,886						
472		7,364	11,056		0,857						
906		7,791	11,698		0,847						
586	9,426	8,387	12,593	11,020	0,841	0,855	54,33	39,15	35,50	36,27	
681		4,575	7,126		0,797						Ruheumsatz
988	5,835	4,769	7,428	7,277	0,806	0,802	35,47				
143		5,378	8,377		0,853						250 g Pferdefleisch gegeben
770		6,288	9,794		0,896						
625		6,331	9,861		0,875						
413		6,326	9,853		0,854						
093	8,409	7,078	11,026	9,782	0,825	0,860	48,22	44,11	34,42	35,91	
433		5,003	7,830		0,822						Ruheumsatz
333	6,133	4,669	7,306	7,568	0,798	0,810	36,96				
786		5,174	8,098		0,838						250 g Pferdefleisch gegeben
419		6,377	9,980		0,844						
318		6,690	10,469		0,890						
225		7,572	11,850		0,863						
464	8,842	7,257	11,357	10,351	0,833	0,854	50,92	44,17	36,77	37,77	
973		4,667	7,269		0,822						Ruheumsatz
996	5,985	4,563	7,108	7,179	0,844	0,833	35,24				
342		5,588	8,704		0,843						250 g Pferdefleisch gegeben
993		6,010	9,361		0,865						
772		6,511	10,141		0,849						
708		5,829	8,080		0,849						
272	8,217	6,954	10,832	9,624	0,856	0,854	47,36	37,29	33,87	34,94	

ersicht der Tabelle XXIII.

chaufnahme			Proz. Steigerung der CO_2-Bildung	Proz. Steigerung des O_2-Verbrauchs	Proz. Steigerung der Kalorienbildung
-Verbrauch kg u. Min. ccm	Respirationsquotient	Kalorienbildung pro kg u. Min. cal			
11,752	0,819	57,51	45,14	36,43	37,72
11,989	0,837	58,87	41,10	43,17	42,86
11,546	0,876	57,13	34,17	31,37	41,85
12,071	0,831	59,18	52,80	49,15	49,71
11,109	0,841	54,56	29,60	25,85	26,32
11,020	0,855	54,33	39,15	35,50	36,27
9,782	0,880	48,22	44,11	34,42	35,91
10,351	0,854	50,92	44,17	36,77	37,77
9,624	0,854	47,36	37,27	33,87	34,39
11.138	0,838	54,23	40,33	36,28	36,98

durch Fleischaufnahme nur dadurch zustande käme, daß das Tier nicht auf der Temperatur gehalten wurde, welche die chemische Wärmeregulation ausschließt. Ich halte diese Annahme für nicht gerechtfertigt, um so weniger, als doch die Erhöhung bei Aufnahme von Rohrzucker sehr deutlich zum Ausdruck kam.

Jetzt folgen meine Ergebnisse nach Entfernung der beiden Nervi splanchnici.

Was den Grundumsatz anlangt, so ist derselbe gegenüber der Zeit vor der Operation nicht geändert, aber um so deutlicher ist die Änderung infolge der Fleischaufnahme. Die Mittelwerte des Ruheumsatzes betrugen für die Kohlensäurebildung 5,905 ccm, für den Sauerstoffverbrauch 7,375 ccm, für die Kalorienbildung pro Kilogramm und Minute 35,88 ccm kleiner Kalorien. Durch die Fleischaufnahme erhöhte sich die Kohlensäurebildung um 46,79 Proz., der Sauerstoffverbrauch um 39,74 Proz., die Kalorienbildung um 40,96 Proz., gegenüber den früheren Werten 27,24, 21,80 und 22,49 Proz. ist diese Steigerung eine ganz gewaltige. Auch nach Aufnahme von Rohrzucker kam es zu einer ganz erheblichen Umsatzsteigerung.

Es ergibt sich aus der vorstehenden Versuchsreihe, daß die prozentische Steigerung der Kohlensäurebildung infolge von Rohrzuckeraufnahme 45,13 Proz. betrug, diejenige des Sauerstoffverbrauchs 23,03 Proz. und diejenige der Kalorienbildung 26,30 Proz.

Schließlich habe ich eine Versuchsreihe angestellt, wo ich das operierte Tier mit Schilddrüse fütterte und während dieser Periode die umsatzsteigernde Wirkung der Fleischaufnahme feststellte. Die Schilddrüsenfütterung hatte eine kleine Erhöhung des Umsatzes zur Folge, denn die Kohlensäurebildung betrug 6,647 ccm, der Sauerstoffverbrauch 8,207 ccm und die Kalorienbildung pro Kilogramm und Minute in kleinen Kalorien 39,52 ccm. Sehr stark war die Steigerung des Umsatzes infolge der Fleischernährung, denn die Kohlensäurebildung hob sich um 40,33 Proz., der Sauerstoffverbrauch um 36,28 Proz. und die Kalorienbildung um 36,98 Proz.

Das Gesamtergebnis an diesem Versuchstier zeigt, daß die Entfernung beider Nervi splanchnici von deutlich feststellbaren Folgen begleitet ist. Die Folgen bestehen im wesentlichen in einer Steigerung des Umsatzes nach Zufuhr von Fleisch, wie auch nach Zufuhr von Rohrzucker. Wenngleich letzteres nicht so stark ausgesprochen ist wie das andere. Auch die Schilddrüsenfütterung hat eine etwas merklichere Wirkung als vor der Durchschneidung beider Splanchnici. In der Deutung dieser Versuchsergebnisse ist einige Vorsicht am Platze, denn es liegen mehrere Möglichkeiten vor, die eine könnte darin bestehen, daß auf Grund der Durchschneidung des Nervus splanchnicus,

einer oft gehörten Meinung entsprechend, die Erregbarkeit der sympathischen Endstätten wesentlich sich erhöht habe.

Die vorliegenden Tatsachen sprechen zugunsten dieser Auffassung. Anhänger der Lehre von der Vagotonie werden der Meinung sein, daß die beobachteten Erscheinungen für ein Überwiegen der Vagusinnervation sprechen, daß gewisse Hemmungen, die auf dem Wege des Nervus splanchnicus die Peripherie erreichen, in Fortfall gekommen sind. Hinsichtlich der Kreislaufsveränderungen ließe sich das hier wohl denken, obwohl deren stoffwechselphysiologische Bedeutung nur schwer faßbar ist.

Außer der Frage des nervösen Mechanismus, der im Spiele sein könnte, kommt auch in Betracht, ob man die beobachteten Veränderungen einem bestimmten Organ zuschreiben könne. Ich habe im Eingang meiner Arbeit in dem Sinne mich geäußert, daß an die Leber gedacht werden könne. Dasjenige Organ, welches namentlich bei Fleischaufnahme am intensivsten beteiligt wird, ist die Leber. Hält man diese Behauptung für richtig, so folgt daraus, daß der Fortfall der Nervi splanchnici die Lebertätigkeit nach Fleischaufnahme wesentlich erhöht. Der Grund, weshalb ich dieser Annahme vorläufig den Vorzug gebe, ist der, daß auch andere Untersucher des Berner physiologischen Instituts zu Ergebnissen kamen, welche der gleichen Deutung Vorschub leisteten, indem eine ganze Reihe von Versuchsanordnungen dazu führten, die Änderung in der Leber zu lokalisieren. Die Ansicht, daß die Leber vor allem die Quelle des von mir festgestellten stoffwechselphysiologischen Sachverhalts sei, wäre erst dann zu verlassen, wenn unzweifelhaft Tatsachen vorliegen, welche gegen diese Ansicht sprechen.

Zusammengefaßt, sind die Ergebnisse meiner Arbeit die folgenden:

1. Durchschneidung beider Nervi splanchnici am Hunde, wenn der Zustand des Tieres nachher ein völlig normaler ist, bedingt keine Veränderung des Grundumsatzes.

2. Die Steigerung des Grundumsatzes durch Fleischaufnahme, sowie auch durch Rohrzuckeraufnahme, die schon am normalen Tiere eine merkliche sein kann, wird durch Durchschneidung beider Splanchnici wesentlich erhöht.

3. Auch die Zufuhr von Schilddrüsenpräparaten wirkt auf die gesamten Erscheinungen stärker als vorher.

4. Die festgestellten stoffwechselphysiologischen Erscheinungen könnten symptomatisch als Ausdruck von Vagotonie bezeichnet werden, sie können aber mit dem gleichen Rechte auf allgemein physiologischer Grundlage als Folgen erhöhter Erregbarkeit der peripheren sympathischen Mechanismen bzw. der neuroplasmatischen Zwischensubstanzen angesehen werden.

5. Manches spricht dafür, daß die wesentlichste Quelle der beobachteten Veränderungen in der Leber gelegen sei.

Beiträge zur Physiologie der Drüsen.

Von

Leon Asher.

Nr. 75.

Untersuchung über den Eisenstoffwechsel in seiner Abhängigkeit von Milz und Ovarien.

Von

Yuzuru Tominaga.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Bern.)

(Eingegangen am 8. Januar 1925.)

Die Beziehungen zwischen Milz und Eisenstoffwechsel sind schon mehrfach Gegenstand der Untersuchungen im Berner physiologischen Institut gewesen, seitdem zum ersten Male *Asher* und *Grossenbacher* die Lehre aufgestellt haben, daß die Milz ein Organ des Eisenstoffwechsels sei. Was nun andere Organe in ihrer Beziehung zum Eisenstoffwechsel betrifft, so findet man in ärztlichen Kreisen sehr häufig die Annahme, daß die Geschlechtsorgane, insbesondere die Eierstöcke, in einem näheren Zusammenhang mit dem Eisenstoffwechsel ständen, wird doch vielfach behauptet, daß die Chlorose eine Krankheit infolge von Eierstocksverhältnissen sei.

Um nach einer anderen als bisher im Berner physiologischen Institut geübten Methode die Rolle der Milz im Eisenstoffwechsel zu prüfen und um neu die Beziehungen zwischen Ovarium und Eisenstoffwechsel zu untersuchen, habe ich auf Anregung von Prof. *Asher* den Eisenstoffwechsel von Ratten mit einer neuen Methode untersucht. Die neue Methode bestand in einer mikrochemischen Bestimmung des Eisens, in verschiedenen Geweben vor und nach Exstirpation der Milz und vor und nach Exstirpation des Ovariums. Zu einer mikrochemischen Bestimmung des Eisens schritt ich deshalb, weil *M. I. Newton Kugelmass*[1]) in der von ihm ausgearbeiteten und

[1]) *M. I. Newton Kugelmass*, Extrait du bull. de la Soc. de Chim. Biol. 4, 577, 1922.

theoretisch begründeten Mikromethode der Eisenbestimmung eine neue und zuverlässige Methode zur Verfügung stellt, um kleinste Eisenmengen zu bestimmen. *Kugelmass* hat die Methode für kolloidale Flüssigkeiten wie Blut und Milch sowie für Wasser und Harn beschrieben. Ich habe sie für Organe ausgearbeitet und fand, daß sie auch für Organeisen sehr brauchbar ist. Die Methode besteht im Prinzip in einer Säureveraschung, in einer Extraktion des Eisens mit Isoamylalkohol und Erzeugung von Eisenrhodanat in der amylalkoholischen Lösung. Diese Lösung wird kolorimetrisch mit einer normalen Eisenlösung gleichfalls in Amylalkohol verglichen.

Meine Versuchsanordnung war die nachfolgende:

Als Versuchstiere dienten mir weiße Ratten. Dieselben wurden mit Mais gefüttert. Ich habe miteinander den Eisengehalt bestimmter Organe der normalen Tiere nach Milzexstirpation, nach Exstirpation der Eierstöcke und nach Exstirpation von Milz und Eierstöcken verglichen. Diejenigen Tiere, bei denen ich Milz und Milz und Eierstöcke exstirpiert hatte, wurden am vierten bis siebenten Tage nach der Operation getötet und untersucht. Die Tiere nach der Eierstockentfernung frühestens am siebenten Tage. Die milzexstirpierten Tiere habe ich früher zur Untersuchung herangezogen, weil man keine Gewähr hat, daß Ratten länger als 10 Tage nach der Milzexstirpation am Leben bleiben. Um das Blut möglichst aus den Organen zu entfernen, wurden die Tiere von der Aorta aus 2 bis 3 Stunden lang mit etwa 3 bis 4 Litern physiologischer Kochsalzlösung durchströmt. Die Flüssigkeit ließ ich aus der Pfortader und aus der Vena cava inf. ausströmen. Die zur Untersuchung dienenden Organe wurden dann nach der Herausnahme aus dem Körper noch mit einer physiologischen Kochsalzlösung abgewaschen, dann wurde das Wasser mit Filtrierpapier abgesaugt und das von Oberflächenwasser befreite Organ im Mörser zerrieben. Das zerriebene Organ wurde in zwei Teile getrennt. Der eine Teil wurde im feuchten Zustand abgewogen und im Quarztiegel verascht. Der zweite Teil wurde etwa 2 Stunden lang im Trockenschrank bei der Temperatur von 90 bis 100° getrocknet, dann abgewogen und im Quarztiegel verascht. Ich habe von dem ersten Teil immer je 0,2 g, vom zweiten Teil je 0,1 g zur Veraschung genommen. Die von mir gefundenen Eisenmengen sind in Milligrammen pro 1 g Organ angegeben.

Der Trockenrückstand des Organs wird mit 1 ccm Salzsäure und 1 ccm Perhydrol verascht, darauf einige Minuten lang gekocht, hierauf abgekühlt. Hierauf werden 10 ccm Isoamylalkohol und 5 ccm Rhodanammonium hinzugefügt, verascht und zentrifugiert. Die Alkoholschicht wird im Kolorimeter mit einer Testlösung verglichen, die aus 0,5 ccm einer Eisenstammlösung, 10 ccm Isolamylalkohol und 5 ccm n/5 Rhodanammonium hergestellt ist. Die Stammlösung wird aus 0,863 g Eisenammoniakalaun, 5 ccm konzentrierter Schwefelsäure und Wasser auf 1000 hergestellt (1 ccm der Stammlösung enthält 0,1 mg Eisen). Die Rhodanammoniumlösung wird durch Auflösen von 380 g des Salzes in 1 Liter destillierten Wassers hergestellt und, um eisenfrei zu werden, Zusatz von einigen Milligrammen Alaun, Alkalisieren und Abfiltrieren des Aluminiumhydroxyds, das das Eisen mitreißt. Als Kolorimeter diente mir ein von Hellige in Freiburg geliefertes Exemplar des *Authenrieth*schen Kolorimeters. Ich

habe mir eine Eichkurve für dieses Kolorimeter angelegt und konnte daher mit Hilfe dieser Eichkurve leicht die vorläufig erhaltenen Eisenwerte ablesen.

Ich habe von normalen Ratten den Eisengehalt der Milz, der Leber, der Niere, des Muskels und in einem Falle denjenigen des Gehirns bestimmt. Die Durchschnittswerte pro 1 g Trockensubstanz betrugen für die Milz 3,152 mg Eisen, für die Leber 0,618 mg, für die Niere 0,358 mg, für den Muskel 0,131 mg und für das Gehirn 0,170 mg Eisen. Es zeigt sich, daß die Milz unter den von mir untersuchten Organen das bei weitem eisenreichste ist, ein Beweis für die Rolle der Milz im Eisenstoffwechsel. Nächst der Milz wäre die Leber am eisenhaltigsten. Bemerkenswert ist, daß das Gehirn verhältnismäßig im Vergleich zum Muskel einen nicht unbeträchtlichen Eisengehalt besitzt. Will man hierüber eine Vermutung aufstellen, so könnte man daran denken, daß die relative Eisenmenge des Gehirns in einem näheren Zusammenhang mit dem Lipoidreichtum des Gehirns steht. Dieser Lipoidreichtum erfordert zu Zwecken der Oxydation, wie wir durch *Meyerhof* wissen, des Eisens als Katalysator.

In Tabelle II bringe ich meine Ergebnisse der Eisenanalyse an ovariumlosen Ratten. In der Milz fand ich durchschnittlich 3,205 mg Eisen pro Gramm Organ, in der Leber 0,486 mg, in der Niere 0,388 mg, im Gehirn 0,130 mg. Als Ergebnis für diese Versuchsreihe läßt sich aussprechen, daß die Entfernung des Ovariums auf den durchschnittlichen Eisengehalt der Organe keinen merklichen Einfluß hat. Es läßt sich daher nicht behaupten, daß das Vermögen der Organe, Eisen zu speichern oder einen bestimmten Eisengehalt festzuhalten, in Abhängigkeit von dem Ovarium stände.

Ich hatte Gelegenheit, in drei Fällen trächtige Ratten zu untersuchen. Ich erhielt bei diesen Tieren im Durchschnitt für die Milz 3 mg Eisen pro Gramm Organ, in der Leber 0,38 mg, in der Niere 0,410 mg, im Muskel 0,155 mg, im Gehirn fand ich 0,228 mg. Aus diesen Ergebnissen folgt, daß bei der Ratte der trächtige Zustand keine Veränderung des normalen Eisengehaltes der von mir untersuchten Organe zur Folge hat. Einzig was das Gehirn anbetrifft, scheint mir eine kleine Steigerung des Eisengehalts feststellbar zu sein. Im großen ganzen läßt sich nicht sagen, daß der trächtige Zustand einen Einfluß auf den Eisenstoffwechsel zu besitzen scheint, wenigstens wenn man den Eisenstoffwechsel nach dem Eisenbesitz der Organe beurteilt.

In der nächsten Versuchsreihe teile ich die Ergebnisse meiner Untersuchungen an milzlosen Ratten mit. Mit diesen Tieren fand ich einen durchschnittlichen Eisengehalt der Leber von 0,923 mg Eisen pro Gramm Organ, in der Niere von 0,880 mg pro Gramm Organ, im Muskel 0,093 mg pro Gramm Organ und im Gehirn 0,210 mg pro Gramm Organ.

Tabelle I. Normale Ratte.

Nr.	Datum 1924	Milz	Leber I	Leber II	Niere I	Niere II	Muskel I	Muskel II	Gehirn I	Gehirn II	Körpergewicht g	Bemerkungen
1	9. VII.	1,320	0,120	0,460	0,053	0,250	0,028	0,065	—	—	125	
2	24. VII.	2,400	0,115	0,450	0,080	0,300	0,034	0,090	—	—	138	
3	20. X.	6,720	0,170	0,840	0,095	0,450	0,032	0,160	—	—	136	
4	22. X.	2,040	0,330	0,960	0,095	0,400	0,026	0,190	—	—	152	
5	24. X.	3,080	0,070	0,380	0,075	0,390	0,030	0,150	0,122	0,170	166	
Durchschnitt		3,152	0,161	0,618	0,080	0,358	0,030	0,131	0,122	0,170		

Tabelle II. Ovariumlose Ratte.

Nr.	Datum 1924	Milz	Leber I	Leber II	Niere I	Niere II	Muskel I	Muskel II	Gehirn I	Gehirn II	Körpergewicht	Bemerkungen
1	14. VII.	2,640	0,115	0,390	0,080	0,280	0,026	0,085	—	—	vor Operation 160 g nach Operation 142 g	8. VII. operiert, vor und nach Operation munter
2	16. VII.	2,040	0,100	0,380	0,090	0,320	0,028	0,090	—	—	vor Operation 160 g nach Operation 130 g	8. VII. operiert, nach Operation munter wie vorher
3	27. X.	4,840	0,276	0,830	0,135	0,440	0,076	0,105	—	—	vor Operation 160 g nach Operation 152 g	20. X. operiert, ganz munter
4	17. X.	3,300	0,125	0,346	0,150	0,510	0,062	0,110	0,095	0,130	vor Operation 144 g nach Operation 132 g	10. XI. operiert, munter und frißt gut
Durchschnitt		3,205	0,153	0,486	0,114	0,388	0,048	0,098	0,095	0,130		

Tabelle III. Trächtige Ratte.

Nr.	Datum 1924	Milz	Leber I	Leber II	Niere I	Niere II	Muskel I	Muskel II	Gehirn I	Gehirn II	Körpergewicht g	Bemerkungen
1	16. X.	4,300	0,135	0,480	0,125	0,510	0,042	0,115	—	—	200	nicht hochgravid
2	13. XI.	2,280	0,115	0,240	0,080	0,380	0,046	0,240	—	0,255	305	hochgravid
3	27. XI.	2,420	0,140	0,420	0,130	0,350	0,022	0,110	0,170	0,200	220	
Durchschnitt		3,000	0,130	0,380	0,112	0,410	0,037	0,155	0,170	0,228		

Tabelle IV. Milzlose Ratte.

Nr.	Datum 1924	Leber I	Leber II	Niere I	Niere II	Muskel I	Muskel II	Gehirn I	Gehirn II	Körpergewicht	Bemerkungen
1	22. VII.	0,340	1,400	0,175	1,150	0,019	0,058	—	—	vor der Operation 142 g nach der Operation 117 g	18. VII. operiert, nach der Operation deutlich Schwäche und Anämie. Eisengehalt in Leber und Niere deutlich vermehrt
2	29. VII.	0,185	0,720	0,225	1,100	0,034	0,095	—	—	vor der Operation 135 g nach der Operation 108 g	25. VII. operiert, nach der Operation deutlich Schwäche und Anämie. Eisengehalt in Niere deutlich vermehrt, in der Leber auch etwas vermehrt
3	11. XI.	—	—	0,160	0,930	—	—	—	—	vor der Operation 153 g nach der Operation 140 g	7. XI. operiert, nach der Operation deutlich entkräftet. Eisengehalt in Niere deutlich vermehrt
4	18. XI.	0,205	0,940	0,105	0,560	0,044	0,100	0,105	0,120	vor der Operation 127 g nach der Operation 125 g	14. XI. operiert, nach der Operation leichte Schwäche
5	25. XI.	0,150	0,630	0,150	0,660	0,030	0,120	0,110	0,300	vor der Operation 147 g nach der Operation 145 g	21. XI. operiert, vor und nach Operation ganz munter
Durchschnitt		0,220	0,923	0,163	0,880	0,032	0,093	0,108	0,210		

Tabelle V. Milz- und ovariumlose Ratte.

Nr.	Datum 1924	Leber I	Leber II	Niere I	Niere II	Muskel I	Muskel II	Gehirn I	Gehirn II	Körpergewicht	Bemerkungen
1	29. X.	0,430	1,980	0,325	1,820	0,028	0,095	—	—	vor der Operation 145 g nach der Operation 130 g	23. X. operiert, nach der Operation Entkräftigung und etwas Anämie. Eisengehalt in Leber und Niere deutlich vermehrt
2	19. XI.	0,210	0,470	0,195	0,370	0,032	0,100	0,070	0,150	vor der Operation 127 g nach der Operation 119 g	14. XI. operiert, vor und nach der Operation munter und frißt gut
3	2. XII.	0,130	0,540	0,080	0,480	0,032	0,115	0,055	0,125	vor der Operation 185 g nach der Operation 186 g	28. XI. operiert, vor und nach der Operation munter und frißt gut
4	3. XII.	0,080	0,360	0,135	0,420	0,042	0,085	0,110	0,170	vor der Operation 175 g nach der Operation 175 g	28. XI. operiert, vor und nach der Operation munter und frißt gut
Durchschnitt		0,213	0,838	0,184	0,773	0,034	0,099	0,078	0,148		

Tabelle VI.

Nr.	Datum 1924	Milz I	Milz II	Leber I	Leber II	Lunge I	Lunge II	Niere I	Niere II	Muskel I	Muskel II	Körpergewicht g	Bemerkungen
						Normales Meerschweinchen.							
1	23. VI.	0,330	—	0,07	—	0,062	—	—	—	0,020	—	270	
2	25. VI.	0,410	—	0,135	—	0,050	—	—	—	0,018	—	280	
3	7. VII.	—	2,040	0,065	0,270	—	—	0,046	0,270	0,026	0,065	230	
Durchschnitt		0,370	2,040	0,090	0,270	0,056	—	0,046	0,270	0,021	0,065		
						Trächtiges Meerschweinchen.							
1	30. VI.	0,600	—	0,080	—	0,100	—	—	—	0,026	—	430	
2	3. VII.	0,310	1,240	0,060	0,285	—	—	0,054	0,360	0,028	0,085	500	hochgravid
3	18. VII.	—	1,240	0,095	0,190	—	—	0,046	0,220	0,022	0,075	500	
Durchschnitt		0,455	1,240	0,078	0,238	0,100	—	0,050	0,290	0,025	0,080		

Das Resultat dieser Versuchsreihe ist sehr klar, es zeigt sich vor allem eine sehr erhebliche Steigerung des Eisengehalts in der Leber und in der Niere. Man sieht hieraus, daß die Entfernung der Milz, ganz entsprechend der *Asher*schen Lehre, eine Änderung im Eisenstoffwechsel hervorruft. Was die Niere anbelangt, so sind die von mir gefundenen Werte wohl so zu deuten, daß die Niere mehr Eisen enthält, weil sie nach Verlust der Milz mehr Eisen ausscheidet als normal. Im Stoffwechselversuch kommt gerade diese Seite des Geschehens nicht so deutlich zum Vorschein, weil die Eisenausscheidung auf dem Kotwege weit überwiegt. Nur auf histologischem Wege hat *Lepehne* sehr klar gezeigt, daß die Niere der milzlosen Ratte histologisch größere Eisenmengen aufweist als diejenige der normalen. In meinen Versuchen wird der streng chemisch-analytische Beweis für diese Tatsache erbracht. Was die Leber anbelangt, so zeigen die von mir gefundenen Werte, daß die Leber für die fehlende Milz offenbar kompensatorisch eintritt. Man sieht aus meinen Einzelwerten, daß der Umfang dieser Kompensation ein verschieden großer ist. Der verschiedene Anteil der Leber an der Kompensation macht sich bei zahlreichen Untersuchungen über die Milzfunktion geltend, was schon öfter in den einschlägigen Arbeiten des Berner physiologischen Instituts hervorgehoben wurde. Im Muskel findet sich im Gegensatz eher eine Herabsetzung des Eisengehalts. Ich will nicht zuviel Gewicht auf diese

Herabsetzung legen, halte es aber nicht für ausgeschlossen, daß der Muskel zu denjenigen Organen gehört, dessen Vermögen, Eisen festzuhalten, infolge der Milzexstirpation abnimmt.

In meiner nächsten Versuchsreihe teile ich die Ergebnisse an Ratten mit, bei denen ich sowohl Milz als Ovarien entfernt habe.

Im großen ganzen sind die Ergebnisse genau die gleichen, wie in der vorhergehenden Versuchsreihe, so daß das Bild wesentlich durch den Verlust der Milz beherrscht wird. Durchschnittlich fand ich in der Leber 0,838 mg Eisen pro Gramm Organ, in der Niere 0,773 mg, im Muskel 0,099 mg und im Gehirn 0,148 mg, also die Zeichen, wenn auch etwas geringer, der größeren Stapelung in der Leber und der größeren Ausscheidung durch die Niere und ein geringeres Retentionsvermögen des Muskels für Eisen.

Ich hatte noch Gelegenheit, Eisenbestimmungen an normalen und trächtigen Meerschweinchen anzustellen. Meine Ergebnisse teile ich in Tabelle VI mit.

Auch in dieser Versuchsreihe zeigt sich, daß der Eisengehalt von Organen des normalen und trächtigen Meerschweinchens sich nicht voneinander unterscheidet, mit Ausnahme der Milz, denn ich finde, daß die Milz des trächtigen Meerschweinchens, auf das Trockengewicht berechnet, weniger Eisen enthält, als die Milz des nicht trächtigen Tieres.

Die vorstehenden Untersuchungen erweitern unsere Kenntnisse des Eisenstoffwechsels des Organismus in Beziehungen zu gewissen Organen mit innerer Sekretion durch Anwendung einer mikrochemischen Eisenbestimmung des Eisens einzelner Organe. Die dominierende Rolle der Milz im Eisenstoffwechsel hat sich wiederum klar herausgestellt. In dieser Untersuchung tut sie sich durch den größeren Eisengehalt der Leber der milzlosen Tiere kund, was offenbar der Ausdruck einer kompensatorischen Funktion ist, und tut sich ferner kund in dem größeren Eisengehalt der Niere, woraus der Schluß gezogen werden muß, daß die Niere bei Fehlen der Milz vermehrt Eisen ausscheidet. Das Ovarium und die Trächtigkeit hat keinen Einfluß auf den Eisenstoffwechsel, denn die Entfernung des Ovariums und die Trächtigkeit bewirkt keine in Betracht kommenden Unterschiede. Auch die Entfernung des Ovariums, hinzugefügt zur Entfernung der Milz, verstärkt die Folgeerscheinungen des Verlustes der Milz nicht. Weiter wäre noch zu erwähnen, daß Anzeichen dafür vorliegen, daß nach Fehlen der Milz die Muskeln weniger befähigt sind, ihren Eisengehalt festzuhalten.

Zusammengefaßt sind die Ergebnisse meiner Untersuchung die nachfolgenden:

1. Es wird eine neue mikrochemische Methode angewandt, um in den Organen kleiner Tiere den Eisengehalt zu bestimmen.

2. Von den Organen ist die Milz das eisenreichste.

3. Nach Entfernung der Milz steigt der Eisengehalt der Leber und der Niere sehr wesentlich an. Der Eisengehalt des Muskels nimmt ab.

4. Die hier mitgeteilten Tatsachen sind neue Bestätigungen für die Lehre von *Asher*, daß die Milz ein Organ des Eisenstoffwechsels sei.

5. Die Entfernung des Ovariums des normalen Tieres und die Trächtigkeit haben keinen merklichen Einfluß auf den Eisengehalt der Organe. Wird der Milzexstirpation die Ovariektomie hinzugefügt, so verstärkt die Entfernung der Eierstöcke nicht die Wirkungen der Milzexstirpation.

Beiträge zur Physiologie der Drüsen.

Von

Leon Asher.

Nr. 76.

Über die Harnabsonderung unter dem Einfluß der Purindiuretica und bei Muskeltätigkeit.

Von

Heinrich Wüscher.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Bern.)

(Eingegangen am 8. Januar 1925.)

Mit 11 Abbildungen im Text.

Einleitung.

Die vorliegende Untersuchung ist als Fortsetzung von zwei Arbeiten, die früher im physiologischen Institut der Universität Bern gemacht worden sind, gedacht. In der einen von ihnen hat *Michaud* (1) den Einfluß des Theophyllins zusammen mit demjenigen größerer Blutentziehungen und Injektionen isotonischer Salzlösungen auf die Diurese studiert und dabei gefunden, daß ein verhältnismäßig geringer Blutentzug ($^1/_8$ bis $^1/_5$ der gesamten Blutmenge) auf kurze Zeit eine sehr starke Theophyllindiurese vollständig sistiert und daß der Ersatz der entzogenen Blutmenge durch die gleiche Menge einer isotonischen Salzlösung nicht imstande ist, diese Wirkung des Blutentzugs aufzuheben. Er zeigte damit, daß die Wirkung der Diuretica der Puringruppe in ziemlich hohem Maße abhängig ist von Nebenbedingungen. Während der Diurese untersuchte er auch das Blut und fand dabei unter anderem, daß in manchen Versuchen selbst bei stärkster Harnflut die Konzentration des NaCl im Harne höher war als diejenige im Blutserum, welche Tatsache er als Argument gegen die Rückresorptionstheorie verwendet.

In der anderen Arbeit haben *Asher* und *Bruck* (2) die Wirkung der Tätigkeit verschiedener Organe auf die Diurese untersucht und unter anderem festgestellt, daß beim narkotisierten Hunde die isolierte

Tätigkeit einer größeren Muskelgruppe einen abschwächenden Einfluß auf die Diurese hat. Sie führen diese Erscheinung auf ein Regulationsbestreben des Organismus zurück, da die tätige Muskelgruppe einen größeren Flüssigkeitsbedarf aufweist.

Es war nun meine Aufgabe, zu prüfen, ob diese beim Kaninchen und Hunde gefundenen Resultate auch für den Menschen Geltung hätten. Darüber hinaus verfolgte ich in meiner Arbeit den Zweck, erneut unter Berücksichtigung von zurzeit viel erörterten Fragen der Harnabsonderung, den Verlauf der Harnabsonderung beim Menschen unter physiologischen Bedingungen und unter geeigneter Variation dieser Bedingungen zu untersuchen. In erster Linie sollte ein Vergleich der Harnabsonderung ohne und mit Einnahme eines spezifischen Diureticums angestellt werden, sodann sollte der Einfluß der Muskeltätigkeit auf die Harnabsonderung geprüft werden.

Die dabei angewandte Methodik — wie übrigens auch die meiner Vorgänger — beruht auf der von *Asher* (6) angegebenen indirekten, korrelativen Aktivitätsmethode. Wir wissen, daß die Tätigkeit der Nieren — und der Drüsen überhaupt — abhängig ist vom Zustand und von der Tätigkeit anderer Organe. Führen wir nun dem Organismus eine bestimmte Flüssigkeitsmenge zu, so wird damit nicht nur die Zusammensetzung des Blutes verändert, sondern sicher auch der Zustand anderer Organe, welche Veränderung dann ihrerseits wieder auf die Nieren wirken kann. Das gleiche gilt, wenn wir durch Muskelarbeit die Tätigkeit und den Zustand eines Teiles der quergestreiften Muskulatur beeinflussen.

Methoden.

Als Versuchsobjekt diente der Verfasser selbst. Die Versuche wurden folgendermaßen angeordnet: Morgens früh (gewöhnlich zwischen 7 und 8 Uhr) wurde der Nachtharn entleert und darauf eine bestimmte Menge Flüssigkeit — chinesischer Tee, Magermilch oder Wasser — getrunken (Magermilch wurde deshalb statt Vollmilch gewählt, damit das Fett die Resorption nicht verzögere). In vielen Versuchen wurde außerdem gleichzeitig ein Diureticum — 1,0 g Theobrominum natriosalicylicum, Diuretin — genommen. Auf feste Nahrung wurde in weitaus den meisten Fällen ganz verzichtet, oder es wurde nur eine kleine Menge Weißbrot eingenommen, um möglichst die Einwirkung von Stoffwechselvorgängen infolge Verarbeitung der Nahrung auf die Nierentätigkeit auszuschließen. Darauf wurde während 4 Stunden der Harn in Abständen von je 1 Stunde gesammelt, seine Menge gemessen und die darin enthaltenen Chloride, Sulfate und Phosphate quantitativ bestimmt. Es zeigte sich, daß in den meisten Versuchen (diejenigen mit Muskeltätigkeit ausgenommen) die genommene Flüssigkeitsmenge nach 4 Stunden wieder ausgeschieden war. Die Analysen wurden nach den Angaben von *Bang* (3) gemacht: Für die Chloride wurde *Volhards* Methode benutzt und die Chloride als NaCl berechnet. Die Sulfate wurden als Benzidinsulfat gefällt, dieses mit NaOH titriert

und als SO_3 berechnet. Die Phosphate wurden mit Uranylacetat in Uranylphosphat umgewandelt, wobei Cochenillentinktur als Indikator diente. Ausgedrückt wurden sie in P_2O_5.

In denjenigen Versuchen, die zur Prüfung der *Michaud*schen Angaben dienten, wurden außerdem noch zu gewissen Zeitpunkten die Chloride des Blutes quantitativ bestimmt, und zwar geschah dies nach der Mikromethode von *Bang* (4). Ich ließ ein paar Tropfen Blut von einem besonders präparierten Stückchen Filtrierpapier aufsaugen und bestimmte durch Wägen des Papiers vor und nach dem Aufsaugen die Menge dieses Blutes. Dann wurde es in ein Reagenzgläschen gebracht und mit 92proz. Alkohol versetzt. Nach 24 Stunden wurde dieser Alkohol, der nunmehr die Chloride des Blutes enthielt, mit n/100 Silbernitratlösung titriert. Als Indikator diente eine 7proz. Kaliumchromatlösung. Mit dieser Methode haben wir aber nur ein Maß für die Chloride des Gesamtblutes, aber nicht für die des Serums. Das letztere ist jedoch für unsere Betrachtungen das wichtigere, zumal da von *Michaud* die Chloride ebenfalls im Serum bestimmt worden sind. Da nun beim Menschen die Ausführung dieser Analyse etwas kompliziert gewesen wäre, so wurde der Chloridgehalt des Serums auf Grund der für das Gesamtblut gefundenen Zahlen berechnet. Ich stützte mich dabei auf Angaben von *E. C. Dodds* und *K. Shirley Smith* (5), die eine gewisse Konstanz des Verhältnisses Chloride im Gesamtblut zu Chloride im Serum beim Menschen gefunden hatten.

Bei den Versuchen, die den Einfluß der Muskeltätigkeit auf die Harnabsonderung betreffen, bestand diese Tätigkeit in dauerndem Treppensteigen während 55 Minuten, und zwar wurde eine Treppe von 44 Stufen mit einer Geschwindigkeit bestiegen, die während jedes einzelnen Versuchs die gleiche blieb, aber bei den verschiedenen Versuchen variierte zwischen 40 und 70 Sekunden für ein einmaliges Hinauf- und Hinuntergehen. Da die Höhe der Treppe und das Gewicht des Verfassers bekannt sind, so kann die jeweilige totale Arbeit leicht ausgerechnet werden. Sie beträgt:

25 646 mkg	bei	70	Sekunden	Geschwindigkeit.
29 947 ,,	,,	60	,,	,,
32 670 ,,	,,	55	,,	,,
44 921 ,,	,,	40	,,	,,

Diese Arbeit wurde gleich in der ersten Stunde des Versuchs geleistet, in zwei Fällen (Versuche 27 und 28) außerdem noch in der dritten Stunde.

Während einzelner Versuche wurden zudem die Differenzen im Körpergewicht von Stunde zu Stunde bestimmt. Da während dieser Zeit feste Bestandteile weder eingenommen noch ausgegeben wurden, können die gefundenen Zahlen ohne weiteres auf den Wasserhaushalt des Organismus bezogen werden.

Es ist nun klar, daß beim Menschen, wo die Nahrung nicht so gleichmäßig zusammengesetzt ist und wo die mit und neben den Nahrungsmitteln aufgenommene Flüssigkeitsmenge manchmal ziemlich wechselt, oft erhebliche Unterschiede in ganz gleich angesetzten Ver-

suchen sich zeigen. Woran in jedem einzelnen Versuch die Ursache liegt, wissen wir häufig nicht oder können es nur vermuten. Um deshalb zuverlässige Durchschnittswerte zu erhalten, wurde jeder Versuchstypus nicht nur einmal, sondern mehreremal ausgeführt.

Besprechung der einzelnen Versuchsreihen.

I. Teil.

1. Reihe: Versuche 1, 2, 3, 4.

Diese Versuche galten hauptsächlich als Probeversuche, um den Verlauf der Diurese und den Modus der Salzausscheidung festzustellen. Es wurden je 400 ccm Tee, bei Versuch 4 zudem noch 1,0 g Diuretin eingenommen. Nach 4 Stunden waren die 400 ccm in allen Versuchen wieder ausgeschieden. Versuch 2, der einige Besonderheiten aufweist, soll nachher besprochen werden, und wir können vorläufig die Versuche 1, 3 und 4 als ziemlich gleichwertig zusammenfassen. Bei diesen war in der ersten Stunde die Diurese sehr beträchtlich, um in der vierten Stunde wieder ungefähr auf der Norm anzulangen. Die Mehrausscheidung, d. h. der Überschuß über die eingenommenen 400 ccm, betrug in allen drei Versuchen mehr als 300 ccm. Dabei war in Versuch 4 die Wirkung des Diuretins nur gering: offenbar hatte das im Tee enthaltene Diureticum schon maximal gewirkt, so daß das Diuretin keine weitere Steigerung der Diurese herbeizuführen vermochte. Die absolute Menge der Chloride sinkt mit der Urinmenge, jedoch nicht so ausgesprochen, sie hält sich auch in der vierten Stunde noch auf einer gewissen Höhe. Die Sulfatmenge geht in der zweiten Stunde um weniges herunter, um sich dann ungefähr konstant zu verhalten. Das interessanteste Verhalten zeigt jedoch die Phosphatmenge, und wir werden auch späterhin sehen, daß diese starken, nicht immer leicht zu erklärenden Schwankungen unterworfen ist. Das Verhalten in diesen drei Versuchen läßt sich so charakterisieren: Sinken in der zweiten Stunde, Wiederansteigen in der dritten und vierten Stunde, trotz anhaltenden Sinkens der Urinmenge. Dabei sind diese Schwankungen oft sehr beträchtlich, so beträgt z. B. in Versuch 1 die Phosphatmenge der zweiten Stunde nur 8 Proz., in Versuch 4 nur 11 Proz. von derjenigen der ersten Stunde.

Bei Versuch 2 haben wir in der ersten Stunde nur eine schwache Diurese (die normale stündliche Harnmenge nehmen wir zu 60 bis 70 ccm an), in der zweiten Stunde eine etwas stärkere, die aber schon in der dritten Stunde wieder anfängt zu sinken. Wir werden diesem refraktären Verhalten gegenüber Diureticis noch einigemal begegnen und müssen uns jetzt schon nach einer Erklärung umsehen. *Adolph* (7) fand bei ähnlichen Experimenten am Menschen, daß der Organismus auf Wasser- oder Salzaufnahme nur dann mit erhöhter Diurese antwortet, wenn er schon vorher vollständig mit Wasser gesättigt gewesen war. Er konstatierte ferner, daß die aufgenommene Wassermenge mindestens 150 ccm betragen muß, wenn sie deutliche Diureseerhöhung bewirken soll. Wir können uns nun vorstellen, daß bei einem solchen negativen Erfolg der Diuretica der Organismus vorher ein gewisses Wasserdefizit aufwies, und daß aus diesem Grunde nur geringe Diurese stattfand. Dieses Defizit braucht gar nicht so beträchtlich zu sein. Nehmen wir einmal an, es habe 200 ccm betragen, dann bleiben für die diuretische Wirkung noch weitere 200 ccm übrig.

Da aber erst bei 150 ccm die Diurese anfängt sich bemerkbar zu machen, so ist bei 200 ccm noch keine starke Mehrabsonderung zu erwarten. Das angenommene Defizit von 200 ccm ist sehr wohl möglich, es braucht nur am Abend vorher eine geringere Flüssigkeitsaufnahme stattgefunden zu haben oder der Nachtharn kann etwas reichlich gewesen sein usw. Eine andere Erklärung, die jedoch weniger plausibel erscheint, wäre folgende: Nach *Meyer* und *Gottlieb* (8) wirkt das Coffein und also auch das ihm verwandte Diuretin diuretisch unsicher bei Personen mit leicht erregbaren Gefäßnervenzentren. Da nun gewiß die Erregbarkeit der einzelnen Teile des Nervensystems auch beim normalen Menschen nicht immer die gleiche ist, so wäre es nicht ausgeschlossen, daß eine vorübergehende Erregbarkeitssteigerung der Gefäßnervenzentren im Spiele wäre.

Was die Salzausscheidung anbetrifft, so gehen wieder die Chloride der Wassermenge ungefähr parallel, die Sulfate zeigen ein ähnliches Verhalten wie in den drei anderen Versuchen und die Phosphate weisen ihre, ich möchte sagen „typische“ Kurve auf: Sinken in der zweiten, Wiederansteigen in der vierten Stunde.

Als Ergebnis dieser Probeversuche haben wir also folgendes: Die Wasserausscheidung ist anfangs erhöht und sinkt nach und nach zur Norm. Immerhin kann dieses Verhalten beeinflußt werden durch den Grad der vorherigen Wassersättigung des Organismus. Eine wesentliche Diureseerhöhung infolge Zugabe von Theobromin zu 400 ccm Tee ist nicht zu konstatieren. Die Chloride gehen der Wassermenge im großen und ganzen parallel, ihre Schwankungen sind jedoch geringer als die der Wasserausscheidung. Die Sulfate zeigen sich während der ganzen Zeit ungefähr auf dem gleichen Niveau, ausgenommen in der ersten Stunde, wo ihre Menge etwas erhöht ist. Die Phosphate sinken in der zweiten Stunde und steigen in der dritten oder vierten Stunde wieder an. Dabei sind diese Unterschiede verhältnismäßig sehr beträchtlich.

2. Reihe: Versuche 5 und 10.

Bei diesen Versuchen wurden je 400 ccm Tee und 1,0 g Diuretin eingenommen. Die Diurese war anfangs sehr gut und sank dann rasch ab. Jedoch ist die Menge des gesammelten Harnes nicht größer als diejenige in den Versuchen mit 400 ccm Tee allein. Die Chloride zeigen ihr gewohntes Verhalten. Die Sulfatmenge ist in Versuch 5 ganz konstant und steigt in Versuch 10 am Schlusse etwas stärker an als sonst. Die Phosphate sinken im Anfang und steigen nachher wieder an, in Versuch 5 allerdings in relativ engen Grenzen.

Das Neue in diesen zwei Versuchen ist die Bestimmung der Chloride im Blute, und zwar wurden je in der ersten Stunde zwei Blutproben entnommen. Das erste Resultat in Versuch 5 ist etwas hoch und vielleicht nicht ganz einwandfrei, die übrigen jedoch stimmen untereinander

und mit später gefundenen Zahlen gut überein. In Versuch 5 finden wir (abgesehen von der ersten Blutprobe):

Konzentration der Chloride im Harne . . 0,2457 Proz.
„ „ „ „ Blute. . . 0,4934 „
„ „ „ „ Plasma . . 0,631 „
(Das letztere Resultat ist durch Rechnung erhalten.)

Dieselben Verhältnisse in Versuch 10:

Chloride im Harne . . . 0,2691 Proz.
„ „ Blute. . . . 0,4657 und 0,4874 Proz.
„ „ Plasma . . . 0,5952 „ 0,6233 „

Wir ersehen aus diesen Zahlen, daß der Gehalt des Harnes an Chloriden weit unter demjenigen des Serums bleibt. Beim Menschen und bei diesem Grade von Diurese tritt demzufolge das *Michaud*sche Phänomen nicht ein.

Bock und *Iversen* (9) haben nun auf Grund ähnlicher, beim Kaninchen ausgeführter Versuche gewisse Überlegungen gemacht, die sie als Argument gegen die Rückresorptionstheorie verwerten. Dieselben lassen sich auch auf meine Zahlen anwenden, speziell in Versuch 10:

100 ccm Plasma enthalten nach *Bunge* und *Abderhalden* 7,0 mg P_2O_5. Die in der ersten Stunde ausgeschiedenen 330 ccm Harn enthalten 79,0 mg P_2O_5, also so viel wie 1130 ccm Plasma. Es müssen also 1130 ccm in den Glomeruli filtriert worden sein, da nach der modernen Rückresorptionstheorie der Phosphatgehalt in den Harnkanälchen unverändert bleibt, mit anderen Worten die rückresorbierte Flüssigkeit keine Phosphate enthält. Um die Urinmenge von 1130 auf 330 ccm herabzubringen, wurden demnach 800 ccm einer Flüssigkeit rückresorbiert, die wiederum nach der modernen Rückresorptionstheorie eine Chloridkonzentration besitzt, die ungefähr derjenigen des normalen Plasmas entspricht, also ungefähr 0,58 Proz. Diese 800 ccm enthalten also 4,64 g Chloride, die ausgeschiedenen 330 ccm enthalten gemäß Analyse 0,89 g, also die durch die Glomeruli filtrierten 1130 ccm 5,53 g, was einer Konzentration von 0,49 Proz. entspricht, während diejenige des Plasmas 0,58 Proz. ist. Wir müssen also annehmen, daß entweder die filtrierte Flüssigkeit einen geringeren Chloridgehalt hatte als das Plasma, und dann handelt es sich nicht mehr um Filtration, sondern um Sekretion, oder daß die rückresorbierte Flüssigkeit reicher an Chloriden war als das normale Plasma, was auf eine selektive Tätigkeit der Zellen in den Harnkanälchen deuten würde.

3. Reihe: Versuche 6, 7, 8, 9.

In diesen Versuchen sollte festgestellt werden, ob das *Michaud*sche Phänomen vielleicht bei geringeren Graden von Diurese eintritt. Es

wurden je 250 ccm Magermilch eingenommen, in Versuchen 7 und 9 dazu noch 1,0 g Diuretin. Betrachten wir zunächst wieder die Wasser- und Salzausscheidung: In den Versuchen 6 und 8 gute Diurese, Salzausscheidung nichts besonderes, außer vielleicht die geringen Schwankungen der Phosphate in Versuch 8. In den Versuchen 7 und 9 konstant geringe Diurese, viel geringer als bei 6 und 8, trotzdem hier zur Magermilch noch das Diuretin hinzukam. Die Salzausscheidung geht ihren gewohnten Gang. Das zweimalige fast ganz gleiche Verhalten der Diurese bei der Kombination von Magermilch und Diuretin läßt uns an ein bestimmtes kausales Verhältnis und nicht bloß an einen Zufall — etwa Wasserdefizit des Organismus — denken. Denn jede Komponente allein würde eine stärkere Diurese bewirken, ihre Wirkungen kombiniert, scheinen sich jedoch gegenseitig aufzuheben, anstatt, wie man erwarten könnte, sich zueinander zu addieren. Es sind natürlich verschiedene Erklärungen dafür möglich, und um die Sache entscheiden zu können, müßten noch mehr solche und ähnliche Versuche angestellt werden. Ich begnüge mich deshalb, einige Möglichkeiten zu erwähnen: Es könnte das Diuretin durch bestimmte, in der Milch enthaltene Substanzen gebunden werden, so daß es nicht mehr auf die Niere einwirken kann, und zwar muß man annehmen, durch solche Substanzen, die ihrerseits auch diuretisch wirken, denn nur so läßt sich das Versagen gegenüber reiner Magermilch erklären. Es ist aber auch möglich, daß die diuretischen Wirkungen der Milch und des Diuretins an zwei verschiedenen Punkten der Nierenzellen oder des Gefäßapparates angreifen und sich gegenseitig aufheben. *Adolph* (7) fand, daß gewisse isotonische oder nahezu isotonische Lösungen, auch wenn sie in großer Menge eingenommen werden, keine Diurese oder sogar Hemmung der Diurese bewirken. Die Wirkungsweise von Magermilch und Diuretin kombiniert, könnte vielleicht derjenigen der erwähnten Lösungen genähert werden.

In den Versuchen 7, 8 und 9 wurde wieder der Chloridgehalt des Blutes bestimmt. Bei Versuch 7 ist nun allerdings der Chloridgehalt des Harnes bedeutend höher als derjenige des Blutplasmas, sowohl in der ersten als auch in der zweiten Stunde, nämlich:

	Erste Stunde Proz.	Zweite Stunde Proz.
Harn	1,2168	1,4742
Plasma	0,5722	0,6221

Da aber die Diurese nicht über den Durchschnitt hinausgeht, so können wir die Verhältnisse nicht mit denen *Michauds* vergleichen, der in einigen Fällen selbst bei stärkster Diurese mehr Chloride im Harne als im Serum fand. In Versuch 9 war sogar die Konzentration

der Chloride im Harne etwas geringer als diejenige im Serum, trotz der schwachen Diurese: im Harne 0,5148 Proz., im Plasma 0,5952 Proz.

Der einzige Versuch, der ein einigermaßen brauchbares Resultat ergab, ist Versuch 8. Hier finden wir in der ersten Stunde im Plasma 0,5837 und 0,5760 Proz., im Harne 0,7020 Proz. Da aber die Diurese keine exzessive ist, so läßt sich eine gewisse Rückresorption nicht ausschließen. Der Chloridgehalt dieser rückresorbierten Flüssigkeit müßte aber unter dem des Plasmas sein, um die höhere Konzentration im Harne zu erklären oder, wenn wir einen bestimmten Chloridgehalt — gleich dem des normalen Plasmas — in der rückresorbierten Flüssigkeit annehmen, so müßte das Glomerulussekret an Chloriden reicher sein als das Plasma Wir sind also wieder gezwungen, eine selektive Tätigkeit, sei es der Glomerulus-, sei es der Harnkanälchenzellen anzunehmen, um die Rückresorptionstheorie halten zu können. Es ist uns damit allerdings nicht gelungen, wie es *Michaud* getan hat, diese Theorie als Ganzes zu widerlegen, aber es ließ sich immerhin zeigen, daß einzelne ihrer Annahmen in direktem Widerspruch zueinander stehen und zum mindesten sehr unwahrscheinlich sind.

II. Teil.

In diesem Teile wurde der Einfluß mäßiger Muskelarbeit auf die Harnabsonderung untersucht. Bevor wir jedoch dazu übergehen, ist es nötig, noch einmal einen Blick auf die Gesamtheit der Versuche ohne Muskeltätigkeit zu werfen.

Die Wasserausscheidung ist, wie wir schon gesehen haben, unter dem Einfluß der Diuretica erhöht (einige Versager ausgenommen). Die Chloridabsonderung ist grosso modo der Urinmenge proportional. Die Sulfatmenge zeigt ein ziemlich konstantes Verhalten während jedes einzelnen Versuchs und läßt sich durch die Schwankungen der Wasserausscheidung gewöhnlich nicht stark beeinflussen. Den interessantesten Punkt bilden die Phosphate: Sie zeigen in fast allen Versuchen das obenerwähnte Verhalten, d. h. ein Maximum in der ersten und eines in der vierten Stunde. Wie läßt sich nun das erklären? Die Phosphormenge des Harnes hängt ab von der Nahrung und besonders von den darin vorkommenden Nucleoproteiden und Nucleoalbuminen. Sie kann ferner vermehrt werden durch verstärkten Zerfall der Zellen des Organismus, also bei starken Anstrengungen und beim Hungern. Weiter kann sie — ein Punkt, auf den wir später noch zurückkommen werden — durch Muskeltätigkeit vermehrt werden.

Savonat und *Genty* (10) haben gefunden, daß die Phosphorausscheidung während der Nacht und besonders während der zweiten Hälfte der Nacht (12 Uhr bis 7 Uhr morgens) ihren Höhepunkt erreicht. Das Maximum, das in den meisten meiner Versuche in der ersten Stunde zu konstatieren

ist, wäre somit die letzte Phase der erhöhten nächtlichen Phosphatausscheidung. Worauf haben wir aber diese zurückzuführen?

Zwei von den genannten Ursachen kommen hier in Betracht: Erstens können wir uns vorstellen, daß der tagsüber in der Nahrung aufgenommene Phosphor ausgeschieden wird, und zweitens kann die Phosphorsäure, die bei der gewöhnlichen alltäglichen Muskelarbeit sich bildet, abgesondert werden. Daß nämlich Muskelarbeit die Phosphorsäurebildung im Organismus begünstigt, darüber, glaube ich, besteht kein Zweifel mehr. *Weyl* und *Zeitler* (11) reizten beim lebenden Kaninchen die Muskeln der einen Körperhälfte auf elektrischem Wege und fanden jedesmal eine Vermehrung der anorganischen Phosphorsäure auf der gereizten Seite. Sie nahmen an, daß diese auf eine Nucleinspaltung zurückzuführen sei. *Klug* und *Olsavszky* (12) zeigten, daß beim Hunde an Tagen, an denen eine beträchtliche Arbeit geleistet wurde, die Phosphatausscheidung höher war als selbst die höchste an arbeitsfreien Tagen, und sie nahmen an, daß die entstehende Milchsäure einen Teil der im Muskel enthaltenen Phosphorsäure löse. *Maillard* (13) fand bei Versuchen, die er mit Soldaten machte, daß an Arbeitstagen die Phosphatausscheidung größer war. Dasselbe Ergebnis hatten auch *Zuntz* und *Schumburg* (14). Alle diese Autoren geben aber nur die Tagesmenge an, und wir wissen deshalb nicht, ob das Plus von Phosphaten während der Muskeltätigkeit gleich nachher oder erst in der folgenden Nacht ausgeschieden wurde. Auf jeden Fall kann man deshalb annehmen, daß wenigstens ein Teil der nächtlichen Mehrausscheidung auf das Konto der Muskeltätigkeit fällt. Was das zweite Maximum anbetrifft, so sind diese zwei Gründe — Nahrung und Muskeltätigkeit — von vornherein auszuschließen, da ja zu Beginn des Versuchs keine Nahrung aufgenommen wurde und außer dem Wege von der Wohnung zum physiologischen Institut, der nur 5 Minuten betrug, keine Muskelarbeit geleistet wurde. Hier kann nur der Zerfall von Zellen des Organismus in Betracht kommen. Bekanntlich findet sich im Hungerzustand relativ viel Phosphor im Harne. *Luciani* (15) fand bei dem Hungerkünstler *Succi* eine leichte Zunahme der Phosphate. *Benedict* (16) konstatierte ebenfalls bei einem fastenden Individuum eine bedeutende Zunahme der Phosphate, die vom ersten bis zum vierten Fasttage dauerte. Er untersuchte den Harn zweimal täglich und fand schon in der ersten Hälfte des ersten Tages diese erwähnte Mehrausscheidung. Genauer kann er jedoch ihren Anfang nicht bestimmen, eben wegen seiner Methode. Es ist also anzunehmen, daß das Phosphatmaximum vor der dritten oder vierten Stunde meiner Versuche dem Fasten zuzuschreiben ist, und es wird damit in deutlicher Weise gezeigt, daß die Zellen des Organismus schon in den ersten Stunden eines Fasttages in erhöhtem Maße zerfallen.

Die Versuche wurden nun so angeordnet, daß immer in einer Versuchsreihe Versuche ohne und Versuche mit Muskeltätigkeit einander gegenüberstehen, wobei die übrigen Bedingungen genau dieselben bleiben.

4. Reihe: Versuche 11, 12, 14.

Es wurden zu Beginn dieser Versuche nur 50 ccm eingenommen, die, wie zu erwarten war, in Versuch 11 die normale Diurese gar nicht beeinflußten. Die Urinmenge hält sich in diesem Versuch während der ganzen Zeit nahe bei dem Durchschnittswert und die Salzausscheidung zeigt ihren gewohnten Gang.

In den Versuchen 12 und 14 wurde während der ersten Stunde die in der Einleitung erwähnte Arbeit ausgeführt, und zwar in Versuch 12 etwas intensiver als in Versuch 14 (60 Sekunden für ein einmaliges Hinauf- und Hinuntersteigen gegenüber 70 Sekunden). Beidemal trat im Verlauf dieser Stunde bedeutende Schweißsekretion auf. Die Harnabsonderung verhält sich, verglichen mit Versuch 11, wie folgt: Die Wassermenge in den 4 Stunden ist um fast die Hälfte niedriger. Das Verhalten der Salze zeigt nichts Neues, ihre Konzentration bleibt ungefähr die gleiche, und demgemäß sind die ausgeschiedenen Mengen geringer, mit Ausnahme der Sulfate, deren Gesamtmenge um ein kleines gestiegen ist. Die Phosphate sind jedenfalls nicht vermehrt und zeigen immer noch ihre typische Kurve. Was die Quantität des Harnes anbelangt, so stehen diese Versuche — und, wie wir sehen werden, auch die folgenden — im Gegensatz zu denjenigen von *Zuntz* und *Schumburg*, die fanden, daß Muskeltätigkeit und speziell der Marsch reichliche Ausscheidung eines relativ dünnen Harnes bewirke, und dies trotz starker Schweißabsonderung und ohne bedeutende Flüssigkeitsaufnahme. Dagegen bestätigen sie die Resultate, die *Asher* und *Bruck* beim Hunde gefunden haben. Der Widerspruch mit den Ergebnissen der genannten Autoren ist wohl auf die ziemlich verschiedene Art und Größe der Muskeltätigkeit zurückzuführen, die dort in einem mehrstündigen Marsch mit militärischem Gepäck bestand.

Weitere Schlüsse, was die Salzausscheidung anbetrifft, lassen sich vorläufig aus diesen Versuchen noch nicht ziehen.

5. Reihe: Versuche 13 und 14.

Beide Versuche sind Arbeitsversuche, wobei zu Anfang 200 ccm Tee eingenommen werden. Es wurden allerdings keine ganz analogen Versuche ohne Arbeit gemacht, wir können jedoch die Versuche 6 und 8 zum Vergleich herbeiziehen, in denen 250 ccm Magermilch genommen werden. Die Wasserausscheidung ist wiederum deutlich vermindert in den Arbeitsversuchen, die Salzausscheidung schwankt noch in den normalen Grenzen und zeigt den gewöhnlichen Verlauf, so daß wir daraus nichts schließen können.

6. Reihe: Versuche 4, 5, 10, 13.

Eingenommen wurden 400 ccm Tee und 1,0 g Diuretin. In Versuch 8 wurde Muskelarbeit geleistet. Vergleichen wir diesen Versuch mit den drei anderen, die schon weiter vorn besprochen wurden, so fällt uns vor allem die starke Verminderung der Urinmenge auf, nämlich 190 ccm in 4 Stunden gegenüber 760, 615 und 560 ccm. Allerdings entspricht dieser geringeren Menge, speziell in der ersten Stunde, auch eine viel stärkere Konzentration der Salze, aber trotzdem reichen die Gesamtmengen im großen und ganzen nicht an diejenigen der Versuche ohne Arbeit heran. Der Verlauf der Salzausscheidung selbst ist normal.

Wir finden also auch hier, daß die Muskeltätigkeit und wohl vor allem die sie begleitende Schweißsekretion die Diurese hemmt und daß dabei trotz stärkerer Konzentration weniger Salze ausgeschieden werden.

7. Reihe: Versuche 16, 17, 20, 25, 15, 18, 19, 21, 22.

In allen diesen Versuchen wurden 600 ccm Tee und 1,0 g Diuretin eingenommen. Die ersten vier Versuche sind ohne Arbeit, die übrigen fünf mit. In mehreren von ihnen wurde das Körpergewicht von Stunde zu Stunde kontrolliert. Versuch 16 stellt wiederum einen Versager gegen-

über Diureticis dar, indem die Harnmenge in der ersten Stunde nur 55 ccm und in 4 Stunden 520 ccm betrug, also nicht einmal ganz so viel, als eingenommen wurde. Bei den übrigen Versuchen haben wir jedoch sehr gute Diurese. In den Versuchen 20 und 25 betrug der Gewichtsverlust während 1 Stunde stets 30 bis 50 g mehr, als der gesammelten Harnmenge entsprach, was auf Rechnung des Wasserverlustes durch die Atmung und die insensible Perspiration zu setzen ist.

In den Versuchen 15, 18 und 19 wurde mäßige Muskelarbeit geleistet (70 Sekunden für einmaliges Hinauf- und Hinuntersteigen), und trotzdem finden wir besonders in den zwei letzten Versuchen eine ganz erhebliche Diuresehemmung in Anbetracht der starken diuretischen Wirkung, die 600 ccm Tee und 1,0 g Diuretin ausüben. Noch deutlicher tritt dies in Erscheinung in den zwei folgenden Versuchen 21 und 22, wo intensivere Muskelarbeit geleistet wurde (40 bzw. 55 Sekunden für die entsprechende Arbeit), und wo eine ganz bedeutende Schweißsekretion sich einstellte. In Versuch 21 betrug die Harnmenge in der ersten Stunde nur 20 ccm, in 4 Stunden nur 210 ccm gegenüber z. B. 550 bzw. 1050 ccm in Versuch 25. Trotzdem sind die Gewichtsverluste verhältnismäßig hohe, besonders in der ersten, dann aber auch in der zweiten Stunde, z. B. erste Stunde in Versuch 21: Harn 20 ccm, Gewichtsverlust 400 g, also Wasserverlust durch Atmung und Schweiß 380 g. Nehmen wir an, die Lungen geben bei gewöhnlicher Atmung 20 g Wasser ab pro Stunde, so würden sie also bei drei- bis viermal intensiverer Atmung nicht mehr als 60 bis 80 g abgeben und der größte Teil des obigen Wasserverlustes wäre demnach der Schweißsekretion zuzuschreiben. Der relativ noch große Verlust während der zweiten Stunde, wo doch keine Arbeit mehr geleistet wird, erklärt sich dadurch, daß erstens der Körper noch mit Schweiß bedeckt war, der während dieser Stunde verdunstete, und zweitens sicher noch frischer Schweiß ausgeschieden wurde oder wenigstens die insensible Perspiration sehr intensiv war infolge der starken Erhitzung des Organismus, die erst allmählich im Laufe der zweiten Stunde verschwand. In der dritten und vierten Stunde war der Wasserverlust durch Haut und Lungen wieder normal.

Was die Größe der Salzausscheidung anbetrifft, so betrachten wir hier, da mehrere Versuche vorliegen, am besten die Durchschnittszahlen. Während der ersten Stunde wurden durchschnittlich ausgeschieden:

	Chloride g	Sulfate g	Phosphate g
Ohne Arbeit	1,41	0,12	0,10
Mit „	0,60	0,07	0,05

Während des ganzen Versuchs wurden durchschnittlich ausgeschieden:

	Chloride g	Sulfate g	Phosphate g
Ohne Arbeit	4,15	0,31	0,23
Mit „	3,08	0,23	0,18

Aus diesen Zahlen geht hervor, daß die Salzausscheidung deutlich vermindert ist und dies ganz besonders während der ersten Stunde, wo sie nur ungefähr die Hälfte der normalen Ausscheidung beträgt.

Zusammenfassung der Versuche mit Muskeltätigkeit.

Um ein übersichtliches Bild von der Wirkung der Muskeltätigkeit zu erhalten, wollen wir noch einmal alle diese Versuche zusammenfassen und sie mit der Gesamtheit der Versuche ohne Muskeltätigkeit vergleichen.

Die Versuche ohne Arbeit sind die folgenden: 1 bis 6, 8, 10, 11, 16, 17, 20, 25 (7 und 9 wurden absichtlich ausgelassen, weil dort, wie wir sahen, Diuresehemmung eintrat durch die Kombination von Magermilch und Diuretin, so daß der Vergleich nicht ganz passend wäre).

Die Versuche mit Arbeit sind: 12 bis 15, 18, 19, 21 bis 24.

Die durchschnittliche Harnmenge in der ersten Stunde betrug:

in den Versuchen ohne Arbeit . . . 270 ccm
„ „ „ mit „ . . . 82 „

Die durchschnittliche Gesamtmenge an Harn betrug:

in den Versuchen ohne Arbeit . . . 630 ccm
„ „ „ mit „ . . . 274 „

Durchschnittliche Chloridmenge:

	Erste Stunde	Alle vier Stunden
Ohne Arbeit	1,13	3,80
Mit „	0,53	2,69

Durchschnittliche Sulfatmenge:

	Erste Stunde	Alle vier Stunden
Ohne Arbeit	0,10	0,28
Mit „	0,061	0,23

Durchschnittliche Phosphatmenge:

	Erste Stunde	Alle vier Stunden
Ohne Arbeit	0,10	0,22
Mit „	0,045	0,18

Nehmen wir die Mengen, die bei den arbeitsfreien Versuchen ausgeschieden wurden, als 100 Proz. an, so betragen bei den Arbeitsversuchen:

	Erste Stunde Proz.	Alle vier Stunden Proz.
Harnmenge	30,4	43,5
Chloride	46,9	70,8
Sulfate	61,0	82,1
Phosphate	45,0	81,8

Wir sehen also eine bedeutend verminderte Harnausscheidung, am stärksten in der ersten Stunde. Demgemäß eine, wenn auch nicht so ausgesprochene Verminderung der Salzmengen, da mit der fallenden Wassermenge die Konzentration steigt. Diese Verminderung schwankt bei den einzelnen Salzen um 50 Proz. in der ersten Stunde und um 25 Proz. für den ganzen Versuch (grob ausgedrückt). Es ist aber nicht unmöglich, daß bei einer sehr großen Anzahl von Versuchen die Parallelität in der Verminderung der Salzmengen noch mehr hervortreten würde. Jedenfalls, glaube ich, kann man aus den verhältnismäßig wenig differierenden Zahlen keine Schlüsse auf ein verschiedenes Verhalten der Salze ziehen.

Wir können uns nun fragen: Rührt diese verminderte Harnabsonderung einzig von der erhöhten Wasserabgabe durch die Lungen und besonders durch die Haut her? Diese Faktoren spielen sicher die Hauptrolle in Anbetracht der großen Gewichtsverluste, die nur durch sie erklärt werden können. Daneben haben aber auch die arbeitenden Muskeln einen erhöhten Flüssigkeitsbedarf. *Ranke* (17) fand, daß im tetanisierten Muskel der Wassergehalt um etwa 1,7 Proz. des Muskelgewichts erhöht ist. Wir dürfen nun das Gewicht aller Muskeln, die bei unseren Versuchen in Tätigkeit versetzt wurden — gesamte Muskulatur der unteren Extremitäten —, wohl auf etwa 12 kg schätzen. Nehmen wir nun an, daß ihr Wassergehalt um 1½ Proz. ihres Gewichts gestiegen sei, so macht dies 180 ccm aus, die der Zirkulation während der Muskeltätigkeit entzogen wurden. Mit anderen Worten: Von der eingeführten Flüssigkeitsmenge, die diuretisch wirken sollte, wurden von vornherein 180 ccm weggenommen und die harntreibende Wirkung nicht unbeträchtlich herabgesetzt. Dieses Wasser wurde aber nachher wieder an die Zirkulation abgegeben, und auf diese Weise läßt sich ein schwaches Ansteigen der Diurese in den folgenden Stunden erklären. Natürlich beeinflussen diese Vorgänge die Gewichtsverhältnisse des Gesamtorganismus keineswegs, da dadurch kein Wasser definitiv verloren geht.

Auf ähnliche Weise erklären übrigens auch *Asher* und *Bruck* (2) die Diuresehemmung, die beim Hunde eintritt infolge von Muskeltätigkeit, nämlich durch einen erhöhten Flüssigkeitsbedarf der tätigen Muskelgruppe. Bei ihren Versuchen spielt dieser Faktor sogar die Hauptrolle, da die Schweißbildung außer Betracht fällt.

Wir haben gesehen, daß während der Arbeitsversuche die Salzkonzentration mit sinkender Urinmenge gewöhnlich steigt, so daß eine gewisse Kompensation eintritt. Jedoch sind diese Konzentrationen nicht sehr hohe. So finden wir z. B. in Versuch 21, in dem die stärkste Diuresehemmung eintrat, eine Konzentration der Chloride von 1,31 Proz., der Sulfate von 0,14 Proz. und der Phosphate von 0,02 Proz., alles

dies bei einer Harnmenge von 20 ccm. In verschiedenen Versuchen ohne Arbeit konstatieren wir höhere Konzentration bei größerer Urinmenge, so in Versuch 1: Chloride 1,52 Proz. bei 70 ccm, in Versuch 2: Sulfate 0,15 Proz. und Phosphate 0,14 Proz. bei 80 ccm, in Versuch 6: Chloride 1,64 Proz. bei 75 ccm usw. Wir müssen demzufolge annehmen, daß die Nieren infolge der Muskeltätigkeit nicht genügend leistungsfähig sind, um im Harne ein Maximum von Konzentration zu schaffen. *Barcroft* und *Brodie* (18) zeigten, daß während erhöhter Diurese der Sauerstoffverbrauch der Nieren stark gesteigert ist. Es liegt nun nahe anzunehmen, daß auch die Herstellung eines konzentrierten Harnes, also die Überwindung eines hohen osmotischen Druckes, einer großen Menge Sauerstoffs bedarf. Da aber während dieser Zeit auch die in Tätigkeit sich befindlichen Muskeln viel mehr Sauerstoff benötigen als gewöhnlich, so ist dieser nicht mehr in genügender Weise für die Nieren zur Verfügung vorhanden, und diese können deswegen die Konzentration nicht so hoch treiben, wie es nötig wäre bei der geringen Wassermenge, die verfügbar ist für sie.

Was nun die Frage der erhöhten Phosphatausscheidung infolge der Muskeltätigkeit anbetrifft, so haben wir gesehen, daß in unseren Versuchen die Phosphate mit den anderen Salzen in verminderter Menge abgesondert werden. Ich glaube aber zeigen zu können, daß diese Tatsache nicht in Widerspruch steht mit den Resultaten der oben erwähnten Autoren. Die Muskeltätigkeit, die in meinen Versuchen ausgeführt wurde, ist viel geringer als diejenige von *Maillard*, *Zuntz* und *Schumburg* usw. Das Plus der Phosphatausscheidung muß demnach entsprechend geringer sein. Ja wir können uns sogar vorstellen, daß überhaupt erst bei einem gewissen Grade oder einer gewissen Dauer von Muskeltätigkeit, die in meinen Versuchen gar nicht erreicht wurden, die Phosphorsäurebildung im Muskel beginnt. Nehmen wir einmal an, es sei tatsächlich mehr Phosphorsäure im Muskel gebildet worden. Um diese im Harne auszuscheiden, fehlte aber das nötige Wasser und eine genügende Leistungsfähigkeit der Niere infolge Sauerstoffmangels. Die Leistungsfähigkeit der Niere mußte zwar wieder zunehmen, wenn einmal die Muskelarbeit beendet war, und auch ein wenig mehr Wasser stand dann zur Verfügung, nämlich dasjenige, das aus den Muskeln zurückkam. Es ist also möglich, daß wenigstens ein Teil der erhöhten Phosphatausscheidung am Ende des Versuchs auf diese Ursache zurückzuführen ist, während ein anderer Teil, wie wir gesehen haben, sicher dem Abbau von Zellen im Organismus zuzuschreiben ist. Die gleichen Ausscheidungshemmungen, Mangel an Wasser und an Sauerstoff, finden sich natürlich auch in den Versuchen der genannten Autoren. Da diese aber ihre Versuche über ganze Tage ausdehnten, so konnten sie die erhöhte Phosphatausscheidung mit einbeziehen, indem später

die Nieren diese beiden Faktoren wieder in genügender Menge zur Verfügung hatten.

Ähnliche Resultate wie für die Phosphate, d. h. eine erhöhte Ausscheidung infolge Muskeltätigkeit, haben *Zuntz* und *Schumburg* (14) und auch *Beck* und *Benedikt* (19) für die Sulfate gefunden, und sie führen es auf erhöhten Eiweißzerfall zurück. Die gleichen Überlegungen wie für die Phosphate lassen sich auch hier machen. Bei meiner mäßigen Muskeltätigkeit ist ein erhöhter Eiweißzerfall viel weniger anzunehmen als bei derjenigen der obigen Forscher. Auch wenn ein solcher stattgefunden hätte, so fehlte zur sofortigen Ausscheidung das Wasser und der Sauerstoff.

8. Reihe: Versuche 26 bis 29.

Diese Versuche stehen zwar nicht in direktem Zusammenhang mit meiner Aufgabe, ich habe sie aber gemacht, um eine interessante Aufgabe von *Bock* und *Iversen* (9) am Menschen zu prüfen. Diese beiden Autoren machten folgenden Versuch: Ein Kaninchen erhielt eine gewisse Quantität Wasser, die natürlich eine erhöhte Diurese bewirkte, aber die Phosphatausscheidung weiter nicht beeinflußte. 2 Stunden später, nachdem die Wasserdiurese ganz oder fast ganz abgeklungen war, erhielt das Tier eine Theophyllindosis, die wiederum die Diurese ganz beträchtlich steigerte, und während dieses Zeitabschnittes nun stieg die Phosphatausscheidung auf das Doppelte und Dreifache der gewöhnlichen Quantität. Außerdem fielen das Maximum der Wasser- und dasjenige der Phosphatausscheidung auf verschiedene Zeitpunkte, und die Phosphatmenge blieb noch eine Zeitlang erhöht, nachdem die Harnmenge schon wieder normal war. Die beiden Autoren schlossen daraus auf eine weitgehende Unabhängigkeit der beiden Ausscheidungsmechanismen.

Ich habe nun ganz analoge Versuche an mir selbst angestellt. In zwei Versuchen (26 und 29) wurden 400 ccm Wasser eingenommen und nach 2 Stunden 400 ccm Tee + 1,0 g Diuretin, in zwei weiteren Versuchen wurde außerdem in der ersten und in der dritten Stunde die gewohnte Muskeltätigkeit verrichtet. Ich habe mich nun überzeugen können, daß allerdings Tee mit Diuretin eine viel stärkere Diurese bewirkt als Wasser allein, dagegen habe ich keine erhöhte Phosphatausscheidung unter dem Einfluß der im Tee und im Diuretin enthaltenen Purinsubstanzen konstatieren können. Die Phosphate zeigen vielmehr die gewohnte Kurve, wie wir sie aus den Versuchen mit und ohne Arbeit kennen. Auch der Einfluß der Muskeltätigkeit zeigt unter diesen Verhältnissen nichts Besonderes. Es ist dies dahin auszulegen, daß entweder die erwähnte Purinwirkung für das Kaninchen spezifisch ist, oder daß sie nur bei Dosen zustande kommt, wie wir

sie beim Menschen nicht anwenden können (Maximaldosis des Diuretins = 1.0 g).

Zusammenfassung.

Die durch die vorliegenden Untersuchungen gewonnenen Resultate lassen sich folgendermaßen zusammenfassen:

1. Für die Menge des abgesonderten Harnes machte es bei einer normalen Person keinen wesentlichen Unterschied aus, ob nur 400 ccm Tee oder 400 ccm Tee plus 1,0 g Theobromin eingenommen wurden, denn 400 ccm Tee bewirkten in jedem Falle allein schon eine starke Diurese.

2. Die Ausscheidung der Chloride ging in allen Versuchen der Wassermenge ungefähr parallel.

3. Die Ausscheidung der Sulfate war annähernd konstant und wurde nur in den höchsten Graden der Diurese vermehrt gefunden. Der Verlauf der Chlorid- und Sulfatausscheidung geht also nicht parallel.

4. Die Phosphatausscheidung sank in den meisten Fällen von der zweiten Stunde des Versuchs an, um in der dritten oder vierten Stunde erneut anzusteigen.

5. Nur in zwei Versuchen bei mäßiger oder sogar schwacher Diurese war die Chloridmenge des Harnes größer als diejenige des Serums. Die von *Michaud* am Kaninchen gefundene Erscheinung größerer Chloridmengen im Harne als im Blutplasma bei starker Diurese ließ sich am Menschen nicht reproduzieren.

6. Magermilch hatte eine deutliche diuretische Wirkung, auf welche Theobromin eher im Sinne der Hemmung wirkt.

7. Muskelarbeit hatte niemals einen die Diurese fördernden Einfluß, selbst dann nicht, wenn große Flüssigkeitsmengen zugeführt wurden. Ein großer Teil des vermehrt zugeführten Wassers verließ den Körper auf dem Wege der Haut und der Lungen, wie durch Gewichtsbestimmungen festgestellt wurde. Die Ausscheidung der Chloride, Sulfate und Phosphate war gleichfalls herabgesetzt.

8. Auch eine Eingabe von Diureticum vermochte nicht in den Arbeitsperioden die Diurese erheblich zu steigern. Diese Tatsache spricht dafür, daß bei Mangel an Wasser für die Nierenwege die Purindiuretica nicht wirken, oder dafür, daß ein in den Geweben liegendes Moment die Wirksamkeit der Diuretica hemmt.

9. Die Ausscheidung der Phosphate wurde während der Muskeltätigkeit nicht geändert, welche Tatsache aber nicht beweisend ist gegen eine erhöhte Phosphatbildung in den tätigen Muskeln.

10. Die von *Bock* am Kaninchen gefundene Tatsache, daß die Purindiurese eine gesteigerte Phosphatausscheidung herbeiführt im Gegensatz zur Wasserdiurese, war in unseren Selbstversuchen nicht festzustellen, auch dann nicht, wenn durch Muskelarbeit der Versuch gemacht wurde, die Phosphate zu mobilisieren.

Graphische Darstellung einiger typischen Versuche.

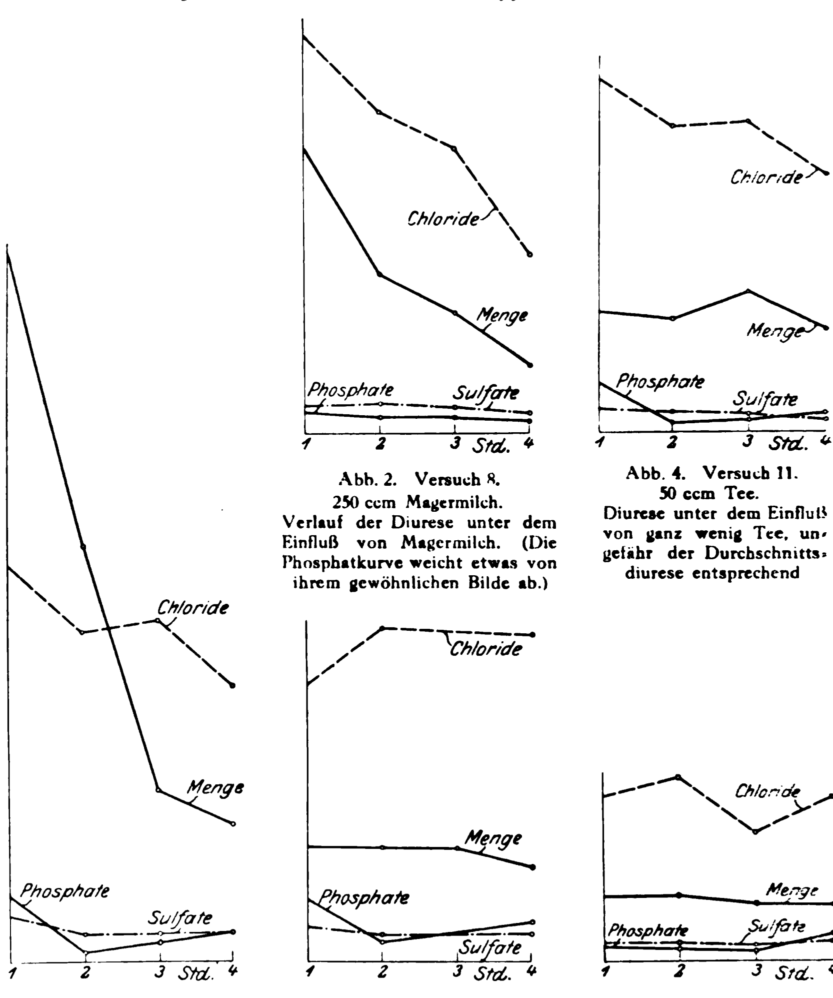


Abb. 1. Versuch 4. 400 ccm Tee, 1,0 g Diuretin. Typischer Verlauf der Wasser- und Salzausscheidung unter dem Einfluß von Tee und Diuretin.

Abb. 2. Versuch 8. 250 ccm Magermilch. Verlauf der Diurese unter dem Einfluß von Magermilch. (Die Phosphatkurve weicht etwas von ihrem gewöhnlichen Bilde ab.)

Abb. 3. Versuch 7. 250 ccm Magermilch, 1 g Diuretin. Geringe Diurese infolge der Kombination von Magermilch und Diuretin. (Vgl. vorhergehende Abbildung.)

Abb. 4. Versuch 11. 50 ccm Tee. Diurese unter dem Einfluß von ganz wenig Tee, ungefähr der Durchschnittsdiurese entsprechend

Abb. 5. Versuch 14. 50 ccm Tee, Muskeltätigkeit (70 Sekunden). Hemmende Wirkung der Muskeltätigkeit auf die Durchschnittsdiurese.

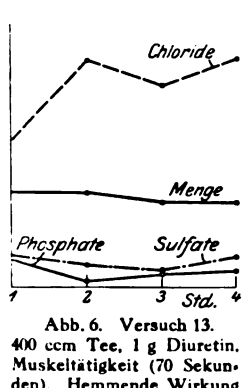


Abb. 6. Versuch 13.
400 ccm Tee, 1 g Diuretin. Muskeltätigkeit (70 Sekunden). Hemmende Wirkung der Muskeltätigkeit auf starke Diurese (vgl. Versuch 4).

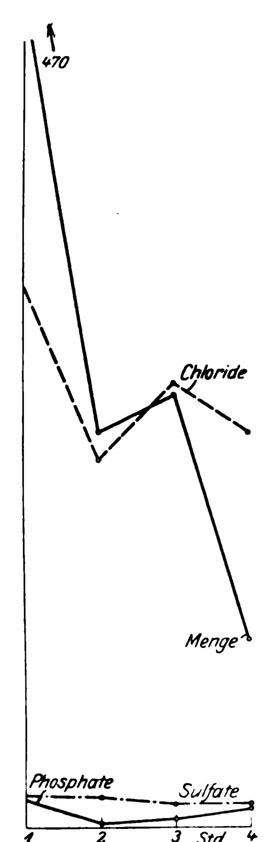


Abb. 7. Versuch 17.
600 ccm Tee, 1 g Diuretin. Sehr starke Diurese unter dem Einfluß einer großen Quantität Tee und von Diuretin.

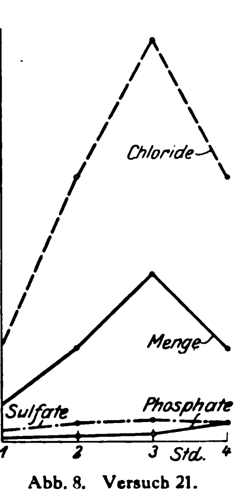


Abb. 8. Versuch 21.
600 ccm Tee, 1 g Diuretin. Muskeltätigkeit (40 Sekunden). Einfluß energischer Muskelarbeit auf starke Diurese, hochgradige Hemmung derselben.

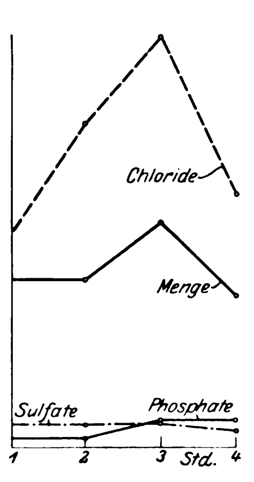


Abb. 9. Versuch 22.
600 ccm Tee, 1 g Diuretin, Muskeltätigkeit (55 Sekunden). Hemmung starker Diurese durch Muskeltätigkeit mittleren Grades.

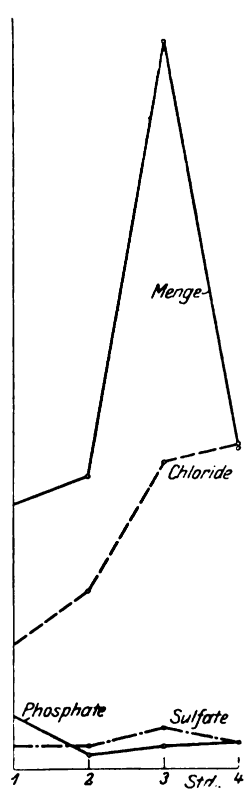


Abb. 10. Versuch 26.
Erste Stunde: 400 ccm Wasser. Dritte Stunde: 400 ccm Tee, 1 g Diuretin. Die Phosphatausscheidung wird von den Purindiuretica nicht speziell beeinflußt.

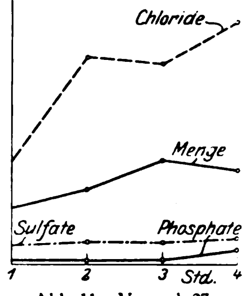


Abb. 11. Versuch 27.
Erste Stunde: 400 ccm Wasser. Muskeltätigkeit (55 Sekunden). Dritte Stunde: 400 ccm Tee 1 g Diuretin, Muskeltätigkeit (55 Sekunden). Stark diuresehemmender Einfluß der Muskeltätigkeit sowohl auf Wasser- als auch auf Purindiurese. Unbeeinflußbarkeit d. Phosphate durch Purindiuretica.

Versuch 1. 29. November 1923.

Harn	Zeit	Menge ccm	Chloride Proz	Sulfate Proz.	Phosphate Proz.	Bemerkungen
	7h10′	—	—	—	—	400 ccm Tee eingenommen
I	8 10	380	0,4212	0,0288	0,0300	
II	9 10	145	0,7254	0,0384	0,0060	
III	10 10	185	0,6669	0,0320	0,0040	
IV	11 10	70	1,5210	0,0665	0,0360	
		780	Plusausscheidung: 380 ccm			
			Absolute Mengen in g			
I	—	—	1,600	0,1102	0,1140	
II	—	—	1,051	0,0551	0,0087	
III	—	—	1,233	0,0562	0,0074	
IV	—	—	1,064	0,0462	0,0252	
			4,948	0,2677	0,1553	

Versuch 2. 4. Dezember 1923.

Harn	Zeit	Menge ccm	Chloride Proz.	Sulfate Proz.	Phosphate Proz.	Bemerkungen
	6h45′	—	—	—	—	400 ccm Tee eingenommen
I	7 45	80	0,8892	0,1536	0,1420	
II	8 45	165	0,5967	0,0448	0,0140	
III	9 45	115	0,7839	0,0528	0,0200	
IV	10 45	75	1,0062	0,0960	0,0660	
		435	Plusausscheidung: 35 ccm			
			Absolute Mengen in g			
I	—	—	0,7112	0,1228	0,1136	
II	—	—	0,9845	0,0742	0,0231	
III	—	—	0,9016	0,0609	0,0230	
IV	—	—	0,7545	0,0720	0,0495	
			3,3518	0,3299	0,2092	

Versuch 3. 6. Dezember 1923.

Harn	Zeit	Menge ccm	Chloride Proz.	Sulfate Proz.	Phosphate Proz.	Bemerkungen
	6h45′	—	—	—	—	400 ccm Tee eingenommen
I	7 45	280	0,3159	0,0288	0,0380	
II	8 45	260	0,4446	0,0256	0,0130	
III	9 45	105	0,8073	0,0512	0,0250	
IV	10 45	60	1,2402	0,0960	0,0980	
		705	Plusausscheidung: 305 ccm			
			Absolute Mengen in g			
I	—	—	0,8848	0,0812	0,1064	
II	—	—	1,1544	0,0665	0,0338	
III	—	—	0,8473	0,0535	0,0262	
IV	—	—	0,7440	0,0576	0,0588	
			3,6305	0,2588	0,2252	

Versuch 4. 8. Dezember 1923.

Harn	Zeit	Menge ccm	Chloride ccm	Sulfate Proz.	Phosphate Proz.	Bemerkungen
	6h45'	—	—	—	—	400 ccm Tee + 1,0 g Diuretin eingenommen
I	7 45	375	0,2808	0,0320	0,0450	
II	8 45	220	0,3978	0,0352	0,0090	
III	9 45	90	1,0062	0,0768	0,0560	
IV	10 45	75	0,9711	0,0928	0,0900	
		760	Plusausscheidung: 360 ccm			
			Absolute Mengen in g			
I	—	—	1,0537	0,1200	0,1687	
II	—	—	0,8756	0,0770	0,0198	
III	—	—	0,9054	0,0691	0,0504	
IV	—	—	0,7282	0,0697	0,0675	
			3,5629	0,3358	0,3064	

Versuch 5. 11. Dezember 1923.

Harn (Blut)	Zeit	Menge ccm	Chloride Proz.	Sulfate Proz.	Phosphate Proz.	Chloride im Blute Proz.	Bemerkungen
	7h45'	—	—	—	—	—	400 ccm Tee + 1,0 g Diuretin
B	8 15	—	—	—	—	0,6005	
C	8 35	—	—	—	—	0,4934	
I	8 45	350	0,2457	0,0144	0,0060	—	
II	9 45	140	0,6786	0,0384	0,0060	—	
III	10 45	70	1,2519	0,0720	0,0670	—	
IV	11 45	55					
		615	Plusausscheidung: 215 ccm				
Harn			Absolute Mengen im Harn in g				
I	—	—	0,8610	0,0504	0,0210	—	
II	—	—	0,9506	0,0532	0,0084	—	
III, IV	—	—	1,5625	0,0900	0,0837	—	
			3,3741	0,1936	0,1131		

Versuch 6. 13. Dezember 1923.

Harn	Zeit	Menge ccm	Chloride Proz.	Sulfate Proz.	Phosphate Proz.	Bemerkungen
	7h10'	—	—	—	—	250 ccm Magermilch eingenommen
I	8 10	195	0,5499	0,0576	0,1040	
II	9 10	75	1,6380	0,0864	0,0420	
III	10 10	175	0,5500	0,0480	0,0170	
IV	11 10	110	0,7020	0,0576	0,0360	
		555	Plusausscheidung: 305 ccm			
			Absolute Mengen in g			
I	—	—	1,0725	0,1131	0,2028	
II	—	—	1,2285	0,0644	0,0315	
III	—	—	0,9625	0,0840	0,0297	
IV	—	—	0,7722	0,0634	0,0396	
			4,1357	0,3249	0,3036	

Versuch 7. 17. Dezember 1923.

Harn (Blut)	Zeit	Menge ccm	Chloride Proz.	Sulfate Proz.	Phosphate Proz.	Chloride im Blute Proz.	Bemerkungen
	6h55'	—	—	—	—	—	250 ccm Magermilch + 1,0 g Diuretin
I	7 55	60	1,2168	0,1472	0,2600	—	
B	8 05	—	—	—	—	0,4477	
II	8 55	60	1,4742	0,1248	0,0900	—	
C	9 25	—	—	—	—	0,4865	
III	9 55	60	} 1,5678	0,1248	0,0880	—	
IV	10 55	50					
		230	Minusausscheidung: 20 ccm				
Harn			Absolute Mengen in g				
I	—	—	0,7302	0,0883	0,1560	—	
II	—	—	0,8844	0,0749	0,0540	—	
III } IV	—	—	1,7248	0,1375	0,0968	—	
			3,3394	0,3007	0,3068		

Versuch 8. 20. Dezember 1923.

Harn (Blut)	Zeit	Menge ccm	Chloride Proz.	Sulfate Proz.	Phosphate Proz.	Chloride im Blut Proz.	Bemerkungen
	7h30'	500 Nachtharn	—	—	—	—	250 ccm Magermilch
B	8 00	—	—	—	—	0,4557	
C	8 20	—	—	—	—	0,4504	
I	8 30	150	0,7020	0,0464	0,0330	—	
II	9 30	85	1,0062	0,0928	0,0520	—	
III	10 30	65	1,1700	0,1024	0,0660	—	
IV	11 30	35	1,3338	0,1344	0,0880	—	
		335	Plusausscheidung: 85 ccm				
Harn			Absolute Mengen in g				
I	—	—	1,0530	0,0696	0,0495	—	
II	—	—	0,8551	0,0839	0,0442	—	
III	—	—	0,7605	0,0665	0,0429	—	
IV	—	—	0,4669	0,0469	0,0308	—	
			3,1355	0,2669	0,1674		

Versuch 9. 8. Januar 1924.

Harn (Blut)	Zeit	Menge ccm	Chloride Proz.	Sulfate Proz.	Phosphate Proz.	Chloride im Blute Proz.	Bemerkungen
	7h45'	180 Nachtharn	—	—	—	—	250 ccm Magermilch + 1,0 g Diuretin
B	8 45	—	—	—	—	0,4650	
I	8 45	60	0,5148	0,1088	0,1180	—	
II	9 45	60	1,0764	0,1024	0,0700	—	
III	10 45	65	} 1,2884	0,0992	0,0760	—	
IV	11 45	50		0,1088	0,1220	—	
		235	Minusausscheidung: 15 ccm				
Harn			Absolute Mengen in g				
I	—	—	0,3090	0,0654	0,0708	—	
II	—	—	0,6456	0,0614	0,0420	—	
III }	—	—	1,4835	0,0643	0,0494	—	
IV				0,0545	0,0610	—	
			2,4381	0,2456	0,2232		

Versuch 10. 10. Januar 1924.

Harn (Blut)	Zeit	Menge ccm	Chloride Proz.	Sulfate Proz.	Phosphate Proz.	Chloride im Blute Proz.	Bemerkungen
	7h45′	230 Nachtharn	—	—	—	—	400 ccm Tee + 1,0 g Diuretin
B	8 05	—	—	—	—	0,4657	
C	8 25	—	—	—	—	0,4874	
I	8 45	330	0,2691	0,0272	0,0240	—	
II	9 45	110	0,9243	0,0464	0,0180	—	
III	10 45	85	1,1466	0,0608	0,0620	—	
IV	11 45	35	1,3806	0,3040	0,1350	—	
		560	Plusausscheidung: 160 ccm				
			Absolute Mengen in g				
I	—	—	0,8877	0,0891	0,0792	—	
II	—	—	1,0164	0,0510	0,0198	—	
III	—	—	0,9749	0,0510	0,0527	—	
IV	—	—	0,4830	0,1064	0,0472	—	
			3,3620	0,2975	0,1989		

Versuch 11. 17. Januar 1924.

Harn	Zeit	Menge ccm	Chloride Proz.	Sulfate Proz.	Phosphate Proz.	Bemerkungen
	7h15′	350 Nachtharn	—	—	—	50 ccm Tee
I	8 15	65	1,4508	0,0960	0,2080	
II	9 15	60	1,3572	0,0880	0,0340	
III	10 15	75	1,0998	0,0480	0,0380	
IV	11 15	55	1,2402	0,0640	0,0840	
		255 (In 24 Std. 1535 ccm)				
			Absolute Mengen in g			
I	—	—	0,9425	0,0624	0,1352	
II	—	—	0,8142	0,0528	0,0204	
III	—	—	0,8250	0,0360	0,0285	
IV	—	—	0.6820	0,0352	0,0462	
			3,2637	0,1864	0,2303	

Versuch 12. 11. Januar 1924.

Harn	Zeit	Menge ccm	Chloride Proz.	Sulfate Proz.	Phosphate Proz.	Bemerkungen
	7h45′	300 Nachtharn	—	—	—	50 ccm Tee, 7h50′ bis 8h45′ Treppensteigen. Treppe von 44 Stufen 1 mal pro Minute.
I	8 45	25	1,3572	0,1600	0,1500	
II	9 45	40	1,8252	0,1480	0,0350	
III	10 45	45	2,0124	0,1360	0,0400	
IV	11 45	35	1,9422	0,1520	0,1600	
		145				
			Absolute Mengen in g			
I	—	—	0,3400	0,0400	0,0375	
II	—	—	0,7300	0,0592	0,0140	
III	—	—	0,9045	0,0630	0,0180	
IV	—	—	0,6790	0,0525	0,0560	
			2,6535	0,2147	0,1255	

Versuch 13. 14. Januar 1924.

Harn	Zeit	Menge ccm	Chloride Proz.	Sulfate Proz.	Phosphate Proz.	Bemerkungen
	7h45'	400 Nachtharn	—	—	—	400 ccm Tee + 1,0 g Diuretin, 7h50' bis 8h45' Treppensteigen 44 Stufen 1 mal pro 70 Sek.
I	8 45	50	0,7722	0,1520	0,1400	
II	9 45	50	1,1934	0,1280	0,0250	
III	10 45	45	1,1934	0,0896	0,0750	
IV	11 45	45	1,3572	0,1792	0,0800	
		190 Minusausscheidung: 210 ccm				
			Absolute Mengen in g			
I	—	—	0,3860	0,0760	0,0700	
II	—	—	0,5967	0,0640	0,0125	
III	—	—	0,5368	0,0400	0,0337	
IV	—	—	0,6106	0,0810	0,0360	
			2,1301	0,2610	0,1522	

Versuch 14. 15. Januar 1924.

Harn	Zeit	Menge ccm	Chloride Proz.	Sulfate Proz.	Phosphate Proz.	Bemerkungen
	7h45'	300 Nachtharn	—	—	—	50 ccm Tee, 7h50' bis 8h45' Treppensteigen, 44 Stufen 1 mal pro 70 Sek.
I	8 45	35	1,2636	0,1400	0,1150	
II	9 45	35	1,4040	0,1440	0,0850	
III	10 45	30	1,1232	0,1480	0,0950	
IV	11 45	30	1,4274	0,1640	0,2200	
		130				
			Absolute Mengen in g			
I	—	—	0,4410	0,0490	0,0402	
II	—	—	0,4940	0,0504	0,0267	
III	—	—	0,3369	0,0444	0,0285	
IV	—	—	0,4282	0,0492	0,0660	
			1,7001	0,1930	0,1614	

Versuch 15. 18. Januar 1924.

Harn	Zeit	Menge ccm	Chloride Proz.	Sulfate Proz.	Phosphste Proz.	Bemerkungen
	7h45'	400 Nachtharn	—	—	—	600 ccm Tee + 1,0 g Diuretin, 7h50' bis 8h45' Treppensteigen 1 mal pro 70 Sek.
I	8 45	275	0,3978	0,0280	0,0140	
II	9 45	140	0,8658	0,0400	0,0120	
III	10 45	150	0,7722	0,0400	0,0100	
IV	11 45	50	1,4976	0,1240	0,0450	
		615 Plusausscheidung: 15 ccm				
			Absolute Mengen in g			
I	—	—	1,1945	0,0770	0,0385	
II	—	—	1,2110	0,0560	0,0168	
III	—	—	1,1580	0,0600	0,0150	
IV	—	—	0,7485	0,0620	0,0225	
			4,3120	0,2550	0,0928	

Versuch 16. 21. Januar 1924.

Harn	Zeit	Menge ccm	Chloride Proz.	Sulfate Proz.	Phosphate Proz.	Bemerkungen
	7h00′	300 Nachtharn	—	—	—	600 ccm Tee + 1,0 g Diuretin
I	8 00	55	0,7020	0,1960	0,3300	
II	9 00	175	0,2340	0,0480	0,0260	
III	10 00	175	0,2340	0,0360	0,0120	
IV	11 00	115	0,4680	0,0440	0,0500	
		520	Minusausscheidung: 80 ccm			
			Absolute Mengen in g			
I	—	—	0,3861	0,1078	0,1815	
II	—	—	0,4095	0,0840	0,0455	
III	—	—	0,4095	0,0627	0,0210	
IV	—	—	0,5382	0,0506	0,0575	
			1,7433	0,3051	0,3055	

Versuch 17. 24. Januar 1924.

Harn	Zeit	Menge ccm	Chloride Proz.	Sulfate Proz.	Phosphate Proz.	Bemerkungen
	7h05′	350 Nachtharn	—	—	—	600 ccm Tee + 1,0 g Diuretin
I	8 05	470	0,3042	0,0200	0,0140	
II	9 05	210	0,4680	0,0360	0,0060	
III	10 05	230	0,5148	0,0240	0,0080	
IV	11 05	100	1,0530	0,0560	0,0480	
		1010	Plusausscheidung: 410 ccm			
			Absolute Mengen in g			
I	—	—	1,4288	0,0940	0,0658	
II	—	—	0,9828	0,0756	0,0126	
III	—	—	1,1845	0,0552	0,0184	
IV	—	—	1,0530	0,0560	0,0480	
			4,6491	0,2808	0,1448	

Versuch 18. 25. Januar 1924.

Harn	Zeit	Menge ccm	Chloride Proz.	Sulfate Proz.	Phosphate Proz.	Bemerkungen
	7h45′	250 Nachtharn	—	—	—	600 ccm Tee + 1,0 g Diuretin, 7h50′ bis 8h45′ Treppensteigen 1 mal pro 70 Sek.
I	8 45	155	0,3042	0,0480	0,0480	Gewichtsverlust: 400 g
II	9 45	130	0,5148	0,0440	0,0100	180 g
III	10 45	110	0,8190	0,0480	0,0220	130 g
IV	11 45	70	0,9828	0,0640	0,0480	100 g
		465	Minusausscheidung: 135 ccm			810 g
			Absolute Mengen in g			
I	—	—	0,4712	0,0744	0,0744	
II	—	—	0,6695	0,0572	0,0130	
III	—	—	0,9009	0,0528	0,0242	
IV	—	—	0,6879	0,0448	0,0336	
			2,7295	0,2292	0,1452	

Versuch 19. 28. Januar 1924.

Harn	Zeit	Menge ccm	Chloride Proz.	Sulfate Proz.	Phosphate Proz.	Bemerkungen
	7h45′	250 Nachtharn	—	—	—	600 ccm Tee + 1,0 g Diuretin. 7h50′ bis 8h45′ Treppensteigen 1 mal pro 70 Sek.
I	8 45	70	0,7488	0,1400	0,1400	Gewichtsverlust: 300 g
II	9 45	75	1,0772	0,0880	0,1300	„ 150 g
III	10 45	55	1,1146	0,1040	0,2100	„ 100 g
IV	11 45	40	1,2402	0,1320	0,2350	„ 100 g
		240	Minusausscheidung: 360 ccm			650 g
			Absolute Mengen in g			
I	—	—	0,5243	0,0980	0,0980	
II	—	—	0,8077	0,0660	0,0975	
III	—	—	0,6270	0,0572	0,1155	
IV	—	—	0,4961	0,0528	0,0940	
			2,4551	0,2740	0,4050	

Versuch 20. 29. Januar 1924.

Harn	Zeit	Menge ccm	Chloride Proz.	Sulfate Proz.	Phosphate Proz.	Bemerkungen
	7h45′	330 Nachtharn	—	—	—	600 ccm Tee + 1,0 g Diuretin
I	8 45	225	0,9126	0,0440	0,0400	Gewichtsverlust: 260 g
II	9 45	200	0,9594	0,0400	0,0160	„ 230 g
III	10 45	110	0,9594	0,0440	0,0380	„ 140 g
IV	11 45	75	1,2402	0,0560	0,1120	„ 125 g
		610	Plusausscheidung: 10 ccm			755 g
			Absolute Mengen in g			
I	—	—	2,0542	0,0990	0,0900	
II	—	—	1,9188	0,0800	0,0320	
III	—	—	1,0549	0,0484	0,0418	
IV	—	—	0,9300	0,0420	0,0840	
			5,9579	0,2694	0,2478	

Versuch 21. 31. Januar 1924.

Harn	Zeit	Menge ccm	Chloride Proz.	Sulfate Proz.	Phosphate Proz.	Bemerkungen
	7h45′	750 Nachtharn	—	—	—	600 ccm Tee + 1,0 g Diuretin. 7h50′ bis 8h45′ Treppensteigen 1 mal pro 40 Sek.
I	8 45	20	1,3104	0,1440	0,0200	Gewichtsverlust: 400 g
II	9 45	50	1,4040	0,1080	0,0250	„ 320 g
III	10 45	90	1,1934	0,0640	0,0200	„ 125 g
IV	11 45	50	1,4040	0,0960	0,1000	„ 100 g
		210	Minusausscheidung: 390 ccm			945 g
			Absolute Mengen in g			
I	—	—	0,2621	0,0228	0,0040	
II	—	—	0,7020	0,0540	0,0125	
III	—	—	1,0740	0,0576	0,0180	
IV	—	—	0,7020	0,0480	0,0500	
			2,7401	0,1884	0,0845	

Versuch 22. 1. Februar 1924.

Harn	Zeit	Menge ccm	Chloride Proz.	Sulfate Proz.	Phosphate Proz.	Bemerkungen
	7h45'	300 Nachtharn	—	—	—	600 ccm Tee + 1,0 g Diuretin, 7h50' bis 8h45' Treppensteigen 1 mal pro 55 Sek.
I	8 45	90	0,6318	0,0640	0,0200	Gewichtsverlust: 300 g
II	9 45	90	0,9594	0,0640	0,0200	„ 260 g
III	10 45	120	0,9126	0,0520	0,0600	„ 160 g
IV	11 45	80	0,8424	0,0480	0,0850	„ 110 g
		380	Minusausscheidung: 220 ccm			830 g
			Absolute Mengen in g			
I	—	—	0,5688	0,0576	0,0180	
II	—	—	0,8634	0,0576	0,0180	
III	—	—	1,0951	0,0624	0,0720	
IV	—	—	0,6736	0,0384	0,0680	
			3,2009	0,2160	0,1760	

Versuch 23. 19. Februar 1924.

Harn	Zeit	Menge ccm	Chloride Proz.	Sulfate Proz.	Phosphate Proz.	Bemerkungen
	7h45'	350 Nachtharn	—	—	—	200 ccm Tee, 7h50' bis 8h45' Treppensteigen 1 mal pro 55 Sek.
I	8 45	35	0,8658	0,1640	0,1450	Gewichtsverlust: 250 g
II	9 45	30	0,9360	0,1520	0,0900	„ 100 g
III	10 45	35	1,2870	0,1400	0,1750	„ 80 g
IV	11 45	30	1,1700	0,1760	0,3250	„ 60 g
		130	Minusausscheidung: 70 ccm			490 g
			Absolute Mengen in g			
I	—	—	0,3031	0,0574	0,0507	
II	—	—	0,2808	0,0456	0,0270	
III	—	—	0,4504	0,0490	0,0612	
IV	—	—	0,3510	0,0528	0,1675	
			1,3853	0,2048	0,3064	

Versuch 24. 21. Februar 1924.

Harn	Zeit	Menge ccm	Chloride Proz.	Sulfate Proz.	Phosphate Proz.	Bemerkungen
	7h45'	700 Nachtharn	—	—	—	200 ccm Tee, 7h50' bis 8h45' Treppensteigen 1 mal pro 55 Sek.
I	8 45	60	1,4274	0,0640	0,0400	Gewichtsverlust: 270 g
II	9 45	60	1,7550	0,0640	0,0450	„ 165 g
III	10 45	65	1,5210	0,0640	0,1150	„ 100 g
IV	11 45	50	1,4040	0,1040	0,1850	„ 90 g
		235	Plusausscheidung: 35 ccm			625 g
			Absolute Mengen in g			
I	—	—	0,8562	0,0384	0,0240	
II	—	—	1,0530	0,0384	0,0270	
III	—	—	0,9886	0,0416	0,0747	
IV	—	—	0,7020	0,0520	0,0925	
			3,5998	0,2704	0,2182	

Versuch 25. 22. Februar 1924.

Harn	Zeit	Menge ccm	Chloride Proz.	Sulfate Proz.	Phosphate Proz.	Bemerkungen
	7h45′	550 Nachtharn	—	—	—	600 ccm Tee + 1,0 g Diuretin
I	8 45	550	0,3276	0,0320	0,0100	Gewichtsverlust: 570 g
II	9 45	260	0,3276	0,0360	0,0150	„ 300 g
III	10 45	190	0,5382	0,0360	0,0400	„ 220 g
IV	11 45	50	1,1700	0,1120	0,1300	„ 85 g
		1050	Plusausscheidung: 450 ccm			1175 g
			Absolute Mengen in g			
I	—	—	1,8040	0,1760	0,0550	
II	—	—	0,8528	0,0936	0,0390	
III	—	—	1,0222	0,0684	0,0760	
IV	—	—	0,5850	0,0560	0,0650	
			4,2640	0,3940	0,2350	

Versuch 26. 25. Februar 1924.

Harn	Zeit	Menge ccm	Chloride Proz.	Sulfate Proz.	Phosphate Proz.	Bemerkungen
	7h00′	350 Nachtharn	—	—	—	400 ccm Wasser
I	8 00	140	0,2340	0,0440	0,1000	
II	9 00	155	0,3042	0,0360	0,0250	400 ccm Tee + 1,0 g Diuretin
III	10 00	385	0,2106	0,0280	0,0150	
IV	11 00	170	0,5148	0,0400	0,0400	
		850	Plusausscheidung: 50 ccm			
			Absolute Mengen in g			
I	—	—	0,3276	0,0616	0,1400	
II	—	—	0,4712	0,0558	0,0387	
III	—	—	0,8123	0,1078	0,0577	
IV	—	—	0,8755	0,0680	0,0680	
			2,4866	0,2932	0,3044	

Versuch 27. 26. Februar 1924.

Harn	Zeit	Menge ccm	Chloride Proz.	Sulfate Proz.	Phosphate Proz.	Bemerkungen
	7h35′	370 Nachtharn	—	—	—	400 ccm Wasser, 7h40′ bis 8h35′ Treppensteigen 1 mal pro 55 Sek.
I	8 35	30	0,8892	0,1760	0,0400	Gewichtsverlust: 280 g
II	9 35	40	1,3806	0,1560	0,0200	„ 175 g
						400 ccm Tee + 1,0 g Diuretin. 9h40′ bis 10h35′ Treppensteigen 1 mal pro 55 Sek.
III	10 35	55	0,9594	0,1080	0,0300	Gewichtsverlust: 350 g
IV	11 35	50	0,2870	0,1360	0,0700	„ 220 g
		175	Minusausscheidung: 625 ccm			1025 g
			Absolute Mengen in g			
I	—	—	0,2668	0,0528	0,0120	
II	—	—	0,5520	0,0624	0,0080	
III	—	—	0,5274	0,0594	0,0120	
IV	—	—	0,6435	0,0680	0,0350	
			1,9897	0,2426	0,0670	

Versuch 28. 28. Februar 1924.

Harn	Zeit	Menge ccm	Chloride Proz.	Sulfate Proz.	Phosphate Proz.	Bemerkungen
	7h35′	400 Nachtharn	—	—	—	400 ccm Wasser, 7h40′ bis 8h35′ Treppensteigen 1 mal pro 55 Sek.
I	8 35	50	0,8540	0,1040	0,0250	Gewichtsverlust: 300 g
II	9 35	40	1,2402	0,1520	0,0200	„ 220 g 400 ccm Tee + 1,0 g Diuretin, 9h40′ bis 10h35′ Treppensteigen 1 mal pro 55 Sek.
III	10 35	90	0,6552	0,0720	0,0250	Gewichtsverlust: 390 g
IV	11 35	60	1,1934	0,1120	0,1000	„ 220 g
		240	Minusausscheidung: 560 ccm			1130 g
			Absolute Mengen in g			
I	—	—	0,4270	0,0520	0,0125	
II	—	—	0,4961	0,0608	0,0080	
III	—	—	0,5897	0,0648	0,0225	
IV	—	—	0,7160	0,0672	0,0600	
			2,2288	0,2448	0,1030	

Versuch 29. 29. Februar 1924.

Harn	Zeit	Menge ccm	Chloride Proz.	Sulfate Proz.	Phosphate Proz.	Bemerkungen
	6h30′	350 Nachtharn	—	—	—	400 ccm Wasser
I	7 30	140	1,0062	0,1040	0,1300	
II	8 30	220	0,6084	0,0560	0,0500	400 ccm Tee + 1,0 g Diuretin
III	9 30	450	0,3276	0,0320	0,0150	
IV	10 30	130	1,1934	0,0800	0,0700	
		940	Plusausscheidung: 140 ccm			
			Absolute Mengen in g			
I	—	—	1,4084	0,1456	0,1820	
II	—	—	1,3376	0,1232	0,1100	
III	—	—	1,4742	0,1440	0,0675	
IV	—	—	1,5509	0,1040	0,0910	
			5,7711	0,5168	0,4505	

Literatur.

1) Zeitschr. f. Biol. **46**. — 2) Ebendaselbst **47**. — 3) *Ivar Bang*, Lehrbuch der Harnanalyse. — 4) *Derselbe*, Mikromethoden zur Blutuntersuchung. — 5) The Journ. of Physiol. **58**. — 6) Zeitschr. f. Biol. **45**. — 7) The Amer. Journ. of Physiol. **65**, 3. — 8) *Meyer* und *Gottlieb*, Experimentelle Pharmakologie, 3. Aufl. — 9) The phosphate excretion in the urine during water diuresis. Det Kgl. Danske Videnskabernes Selskab. Biologiske Meddelser. **3**, 1. — 10) C. r. de la soc. de biol. **70**. — 11) Zeitschr. f. physiol. Chem. **6**. — 12) Pflügers Arch. **54**. — 13) Journ. de physiol. et de path. générale **11**. — 14) *Zuntz* und *Schumburg*, Physiologie des Marsches. — 15) *Luciani*, Das Hungern. — 16) Publications of the Carnegie Institution of Washington, Nr. 203. — 17) *Ranke*, Tetanus. — 18) Journ. of Physiol. **32**. — 19) Pflügers Arch. **54**.

Über die Blutzuckerkonzentration bei Kühen und den Einfluß der Lactationsintensität auf dieselbe.

Von

Erik M. P. Widmark und **Olof Carlens.**

(Aus dem medizinisch-chemischen Institut Lund.)

(Eingegangen am 10. Januar 1925.)

Die Konzentration des Blutzuckers eines Tieres kann als das Resultat zweier einander entgegenwirkenden Prozesse betrachtet werden; einerseits die Zufuhr in das Blut von Darm und Leber aus, andererseits der Zuckerverbrauch als Bedarf des Organismus. Eine konstante Konzentration des Blutzuckers kann man sich nur dann vorstellen, wenn der zuführende Prozeß jeden Augenblick mit dem eliminierenden gleichen Schritt hält; überwiegt der letztere, so sinkt der Blutzuckergehalt, überwiegt der erstere, so steigt er. Bei milchgebenden Tieren kommt als eliminierender Faktor außer dem eigenen Verbrauch auch die Produktion von Milchzucker hinzu. Bei diesen Tieren werden also an das kompensatorische Vermögen des Organismus höhere Ansprüche gestellt. In besonders hohem Grade gilt dies für unsere milchgebenden Haustiere, Kühe und Ziegen. Bei diesen wurde die Milchproduktion durch systematische Zucht so weit als möglich gesteigert. Der Bedarf der Milchdrüsen an Glucose zur Produktion von Milchzucker ist außerordentlich gesteigert. Außer dem Eigenbedarf des Organismus an Traubenzucker benötigt eine stark milchgebende Kuh, wenn wir z. B. eine tägliche Milchmenge von 28 kg annehmen, ungefähr 60 g Glucose in der Stunde. Dies bedeutet mit anderen Worten, daß allein für die Milchproduktion der ganze Zuckervorrat des Blutes ungefähr jede 15. Minute erneuert werden muß. Angesichts eines derartigen Überschlags erscheint es nicht unwahrscheinlich, daß die Lactationsintensität bei diesen Tieren einen großen Einfluß auf die Blutzuckerkonzentration haben kann. Diese Frage bildete den Gegenstand unserer Studien in vorliegender Arbeit.

Unsere Untersuchungen wurden an Viehbeständen verschiedener Bauerngüter der Umgebung von Lund ausgeführt. Die Tiere gehörten

in allen Fällen der schwedischen schwarzfleckigen Niederungsrasse an. Die Blutproben wurden der Ohrvene, gewöhnlich zwischen 11 und 12 Uhr vormittags entnommen. Die Bestimmungen wurden nach der Mikromethode von *Bang* ausgeführt. Alle Bestimmungen wurden von einem von uns (*Carlens*) ausgeführt. Um zu kontrollieren, ob sich hinsichtlich der absoluten Werte der Bestimmungen kein Fehler eingeschlichen hat, haben wir in den allermeisten Fällen neben den Blutproben Kontrollproben mit reinen Glucoselösungen bekannten Gehalts eingeführt. Die mitgeteilten Werte sind stets Mittelzahlen zweier Bestimmungen. Die Bestimmungen umfassen teils Blutzuckerbestimmungen an Kühen mit schwankenden Milchmengen, teils an Färsen sowie Geltkühen. Außerdem wurden einige Bestimmungen an einer Ziege ausgeführt, deren Milchmenge zwischen 1500 und 350 g per Tag variierte.

A. Der Blutzuckergehalt nicht milchgebender Kühe.

Die Zuckerkonzentration bei Geltkühen, die kein Kraftfutter erhalten haben, ist, wie obige Tabelle zeigt, ungefähr die gleiche wie beim Menschen. Das Mittel der Bestimmungen beträgt 0,085 Proz., die Grenzwerte 0,129 und 0,062. Man beobachtet hier indessen eine Variation des Blutzuckergehalts, die vielleicht etwas größer ist als man beim Menschen anzutreffen pflegt.

Tabelle I.

Der Blutzuckergehalt von nur mit Zuckerrübenblättern gefütterten Geltkühen.

Bezeichnung des Tieres	Blutzuckerkonzentration Proz.	Bemerkungen
A. Helgonagården . . .	0,073	24. X. Gelt seit 1 Monat
	0,062	27. X.
	0,071	28. X.
	0,090	29. X.
	0,085	5. XI.
B. Arlövsgården	0,129	25. X. 1 Monat gelt
	0,087	1. XI.
C. Arlövsgården	0,086	25. X. 14 Tage gelt
	0,089	1. XI.
D. Arlövsgården	0,068	25. X. 14 Tage gelt
	0,087	1. XI.
E. Arlövsgården	0,079	25. X. 3 Wochen gelt
	0,093	1. XI.

Der Blutzuckergehalt von Färsen mit der gleichen Fütterung ergibt sich aus Tabelle II.

Tabelle II.

Der Blutzuckergehalt von nur mit Zuckerrübenblättern gefütterten Färsen.

Bezeichnung des Tieres		Blutzuckerkonzentration Proz.
J. Helgonagården	24. X.	0,082
	27. X.	0,081
	28. X.	0,079
	29. X.	0,091
	5. XI.	0,071
F. Arlövsgården	. . . .	0,093
G. „	. . . .	0,090
H. „	. . . .	0,091
I. „	. . . .	0,087

Hier finden wir ungefähr die gleichen Blutzuckerwerte wie bei nicht milchgebenden Kühen. Das Mittel dieser Bestimmungen beträgt 0,085 Proz., die Werte schwanken zwischen 0,091 und 0,071.

B. Der Blutzuckergehalt milchgebender Kühe.

Die untenstehende Tabelle III gibt eine Zusammenstellung von Bestimmungen des Blutzuckergehalts an Kühen, die ein und demselben Viehbestand angehören und die alle auf die gleiche Weise gefüttert wurden, nämlich ohne Kraftfutter und nur mit Zuckerrübenblättern. Die fünf Tiere, die hier untersucht wurden, produzierten ziemlich schwankende Milchmengen. Am meisten milchgebend war *Selma* mit einer Mittelproduktion von 18 kg. Am wenigsten gab *Stina* mit einer Mittelproduktion von 6 kg. Wir hatten nicht Gelegenheit, die Milchmenge jeden Tag zu messen, weshalb die hier angeführten Werte nur eine ungefähre Schätzung der Mittelproduktion bilden. Die Tabelle zeigt uns, daß die Blutzuckerwerte im allgemeinen bedeutend niedriger sind als bei nicht milchgebenden Kühen. *Der niedrigste beobachtete Wert beträgt 0,040 Proz. und 0,041 Proz. bei den am meisten milchgebenden Kühen. Dies ist ein staunenswert niedriger Blutzuckerwert. Ein so geringer Blutzuckergehalt würde bei anderen Tieren und auch beim Menschen ein außergewöhnlich kritisches Stadium bezeichnen, da wir durch die Insulinforschungen der letzten Jahre wissen, daß das Hypoglykämiesymptom sich im allgemeinen bei einer Blutzuckerkonzentration, die zwischen 0,05 und 0,04 Proz. liegt, zu erkennen gibt.* Wir müssen also annehmen, daß bei milchgebenden Kühen der Bedarf einer gleich hohen Blutzuckerkonzentration wie bei anderen Tieren nicht vorliegt. Die Tiere haben sich offenbar an eine so niedrige Blutzuckerkonzentration angepaßt, da man an gesunden Kühen niemals Anzeichen für einen Zustand von Hypoglykämie vorfindet. Wir müssen jedoch der Ansicht sein, daß diese niedrige Blutzuckerkonzentration, die durch eine systematisch hinaufgetriebene Milchproduktion

beim Rassenvieh hervorgerufen wurde, einen für diese Tiere mißlichen Zustand darstellt.

Tabelle III.

Der Blutzuckergehalt milchgebender, nur mit Zuckerrübenblättern gefütterter Kühe vom Helgonagård.

Name	Selma	Lilja	Tella	Lina	Stina	Probenahme
Tagesmilchmenge	18 kg	14 kg	10 kg	8 kg	6 kg	
Blutzucker in Proz.	0,064	0,062	0,067	0,067	0,073	17. X.
	0,060	0,061	0,062	0,059	0,066	19. X.
	0,075	0,091	0,082	0,082	0,094	21. X.
	0,050	0,055	0,050	0,057	0,060	22. X.
	0,042	0,043	0,042	0,046	0,052	23. X.
	0,044	0,040	0,052	0,043	0,048	24. X.
	0,047	0,048	0,053	0,050	0,049	27. X.
	0,041	0,048	0,052	0,051	0,049	28. X.
	0,055	0,064	0,056	0,066	0,058	29. X.
	0,054	0,055	0,056	0,063	0,060	5. XI.

Auch an anderer Stelle haben wir in einer vorläufigen Mitteilung[1]) eine Theorie vorgelegt, daß das Kalbungsfieber (Paralysis puerperalis) bei Kühen als ein hypoglykämisches Koma aufzufassen ist, welches durch eine nach dem Kalben einsetzende, zu starke Lactation hervorgerufen wird. Durch intravenöse Injektion von Glucoselösung haben wir das Koma auch zum Verschwinden bringen können.

Der Mittelwert für den Blutzuckergehalt diesem Viehbestand angehöriger milchgebender Kühe ist 0,057 gegenüber 0,076 der Geltkuh A und 0,081 der Färse J des gleichen Viehbestandes und bei gleicher Ausfütterung.

In diesen Bestimmungen kann man einen gewissen Zusammenhang zwischen Milchmenge und Blutzuckergehalt bemerken; *je intensiver die Lactation, desto niedriger ist der Blutzuckergehalt.* Es wurde bereits erwähnt, daß die niedrigsten Werte in dieser Serie bei den beiden am stärksten milchgebenden Kühen gefunden wurden. Der höchste Wert, 0,094, wurde bei der am schwächsten milchgebenden beobachtet. Wird der Mittelblutzuckergehalt für jedes Tier für sich berechnet, so ergibt sich die folgende Tabelle:

Bezeichnung	Milchmenge kg	Mittelblutzuckergehalt Proz.
Selma	18	0,053
Lilja	14	0,057
Tella	10	0,057
Lina	8	0,058
Stina	6	0,061
Geltkuh A	0	0,076
Färse J	0	0,081

[1]) Svensk Veterinärtidskrift 1925.

Die hier mitgeteilten Ziffern betreffen Kühe, die ausschließlich mit Zuckerrübenblättern, also ohne Kraftfutter, gefüttert wurden. Bei Verabreichung von Kraftfutter fällt der Blutzuckergehalt nicht so niedrig aus wie bei den vorher geschilderten Untersuchungen.

Tabelle IV.

Milchkühe vom Arlövsgård mit Zuckerrübenblättern und Kraftfutter gefüttert.

Bezeichnung	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T
Kraftfutter in kg per Tag . . .	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Milchmenge in kg	23,9	23,0	22,3	20,4	21,0	8,2	9,0	8,6	8,2	7,8
Blutzucker: in Proz. 25. X.	0,070	0,073	0,078	0,054	0,070	0,068	0,065	0,073	0,069	0,063
„ „ 1. XI.	0,080	0,078	0,077	0,070	0,073	0,087	0,088	0,083	0,086	0,078

Die Tabelle zeigt, daß der Blutzuckergehalt bei der Verabreichung von Kraftfutter allerdings keineswegs so hoch wird, wie bei nicht milchgebenden Kühen, jedoch bedeutend höher ist als bei Kühen, die kein Kraftfutter erhalten haben. Die mittlere Konzentration des Blutzuckers ist bei diesen Tieren 0,075.

Außer diesen Bestimmungen an Kühen haben wir einige solche an einer milchenden Ziege ausgeführt, die mit Ölkuchen, Kleie, Wiesenheu und Futterrüben gefüttert wurde. Der Blutzuckergehalt betrug bei dieser an den verschiedenen Tagen der Lactationsperiode 0,061, 0,059, 0,048, 0,06 und 0,051 Proz. Wir fanden also auch bei diesem Tier extrem niedere Blutzuckerwerte und im großen ganzen die gleichen Verhältnisse wie bei Kühen.

Wie soll man sich nun das Zustandekommen dieser permanent niedrigen Blutzuckerkonzentration bei stark milchgebenden Tieren vorstellen? Es kann offenbar nicht darauf beruhen, daß die Zufuhr geringer ist als die Elimination, denn wäre dies der Fall, so müßte die Blutzuckerkonzentration während dieses Zustandes stetig abnehmen. Bei der milchgebenden Kuh muß ein neuer Gleichgewichtszustand zwischen Zufuhr und Elimination eingetreten sein. Es ist seit langem bekannt, daß eine Herabsetzung der Zuckerkonzentration des Blutes eine Stimulanz zu erhöhter Zuckerzufuhr ins Blut mit sich bringt. Die gesteigerten Zuckeransprüche bei der stark milchgebenden Kuh haben so lange eine Senkung des Blutzuckergehalts zur Folge, bis diese Senkung einen hinreichenden Reiz für eine erhöhte Zufuhr von Zucker ins Blut zur Folge hat. Sobald diese Zufuhr die Größe der Elimination erreicht hat, tritt der neue niedrige Gleichgewichtszustand ein.

Zusammenfassung.

1. Die Blutzuckerkonzentration nicht milchgebender Kühe und Färsen bei der Fütterung ohne Kraftfutter wurde mit der Mikromethode nach *Bang* zu ungefähr 0,085 Proz. bestimmt. Der Blutzuckergehalt weicht bei diesen Tieren nicht wesentlich von dem ab, den man früher bei anderen normalen Tieren gefunden hat.

2. Bei milchgebenden Kühen und Ziegen ist der Blutzuckergehalt erheblich niedriger, und findet man bei Kühen, die kein Kraftfutter erhalten haben, Werte, die ungefähr die Hälfte derer betragen, die man im allgemeinen bei Tieren findet. Der niedrigste erhaltene Wert betrug 0,040 Proz. Der Blutzuckergehalt dieser Tiere nähert sich also jener Grenze, bei welcher man bei anderen Tieren das Auftreten von Hypoglykämiesymptomen zu beobachten pflegt.

3. Die Bestimmungen ergeben, daß zwischen Milchmenge und Blutzuckergehalt eine gewisse Beziehung besteht; je größer die Milchmenge, desto niedriger ist der Blutzuckergehalt.

4. Bei der Verabreichung von Kraftfutter ist der Blutzuckergehalt milchgebender Kühe in der Regel höher, als wenn Kraftfutter nicht gegeben wird.

Die Untersuchung einiger Fermente des Liquor cerebrospinalis im pathologischen Zustand.

Von

St. Draganescu und A. Lissievici-Draganescu.

(Aus der neurologischen Universitätsklinik Bukarest.)

(Eingegangen am 13. Januar 1925.)

Die Untersuchungen der Fermente des Liquor cerebrospinalis sind im großen und ganzen wenig zahlreich.

In Wirklichkeit hat man in diesem Punkte hauptsächlich nur die Flüssigkeit der Kranken mit Neurolues, der Meningitis und verschiedenen Psychosen studiert. Bis jetzt wurden keine Studien des Liquor cerebrospinalis im Parkinsonismus, bei dem Krebse der Wirbelsäule und in den heredo-degenerativen Krankheiten unternommen. In eben dieser Richtung haben wir Forschungen unternommen, deren Ergebnis wir hier angeben werden. Wir haben die Amylase, die Peroxydase, die tryptischen und antitryptischen Fermente geprüft. Bevor wir das Ergebnis aber zur Kenntnis bringen, werden wir in kurzgefaßten Worten die Forschungen anderer über diese Fermente angeben.

Die Amylase. Cavazzani und *Grober* (1) sind die ersten, die diese Fermente in der Spinalflüssigkeit gefunden haben. *Kafka* (2) hat es bewiesen, daß es in sehr kleiner Anzahl auch beim Normalen gefunden wird, während bei Dementia paralytica, Dementia praecox und chronischem Alkoholismus die Anzahl größer war. *Szabo* (3) kam beinahe zu denselben Schlußfolgerungen. Seit kurzem studierte *Hayashi* (4) die Veränderungen einiger Fermente des Liquor cerebrospinalis in den verschiedenen sich entwickelnden Phasen der Dementia paralytica, der Dementia praecox, der Manie, der Melancholie. Er bestätigt ein Zunehmen der amylolytischen Kraft der Flüssigkeit, wenn die Krankheit abnimmt, und ein Abnehmen, wenn die Krankheit zunimmt. Die Unterschiede, die er in der Dementia paralytica wahrgenommen hat, schwanken zwischen 0,75 bis 2,5; bei den anderen Krankheiten sind die Zahlen weniger groß.

Die oxydierenden Fermente. Es ist bestätigt worden, daß die Spinalflüssigkeit im pathologischen Zustand eine Peroxydase, eine Oxydase und Katalase enthalten kann.

Die Peroxydase wurde in dem Liquor cerebrospinalis zum erstenmal von *Sicard* und *Enriquez* (5) in den Fällen der septischen Meningitis festgestellt. Dieselben Ergebnisse erzielt *Marfan* (6). Seit damals wurden viele Forschungen in dieser Richtung gemacht. Unlängst hat *L. Sabatini* (7)

außer anderen Krankheiten die Flüssigkeit einiger Fälle von Parkinsonismus geprüft und fand keine Peroxydase in dieser letzteren Krankheit.

Die Peroxydase ist in Verbindung mit dem Plasma der polynucleären Zellen und mit den roten Blutkörperchen, und folglich begegnet man ihr nur in den Flüssigkeiten, die diese Elemente enthalten. Und was die direkt oxydierenden Fermente — die Oxygenasen — anbelangt, haben *Cavazzani* (8) und *Pighini* (9) bewiesen, daß sie in der normalen Flüssigkeit zu finden sind. Zu denselben Schlußfolgerungen sind auch *Kafka* und *Szabo* in der oben angedeuteten Arbeit gekommen. *Hayashi*, der die Methode *Bachs* und *Chodats* mit Pyrrogallol gebraucht, fand ein Zunehmen der Oxydase, wenn die Krankheiten (Dementia paralytica, Manie, Melancholie) abnehmen, und ein Abnehmen, wenn sich die Krankheiten verschlimmern.

Es gibt nur wenige Untersuchungen, was die Katalase betrifft. *Barbieri* (10) fand sie nicht. *Szabo* stellt eine schwache katalatische Wirkung der Flüssigkeit fest. *Lewinson* und *Becht* (11) haben auch manche Nachforschungen in dieser Richtung gemacht. Indem sie eine gasometrische Methode gebrauchten, stellten sie fest, daß die Flüssigkeiten, denen es an Zellelementen mangelt, eine schwache oder gar keine katalatische Kraft besitzen. Die Katalase ist trotzdem reichlich zu finden in der tuberkulösen Meningitis, in der Polyomyelitis und sehr reichlich in den eiterigen Hirnhautentzündungen.

Antitryptisches Ferment. Die meisten Untersuchungen waren über die antiproteolytischen Fermente des Serums gemacht worden (*N. Fiessinger* (12), *Stévenin* usw.).

Es sind nichtsdestoweniger einige Studien, die die antitryptische Kraft des Liquors betreffen. *Corsini* und *Satta* haben ein Antitrypsin in der tuberkulösen und eiterigen Meningitis gefunden. *Kafka* gibt zu, daß es eine leichte antitryptische Kraft auch in der normalen Flüssigkeit gibt, dieselbe, die er reichlicher in der Dementia paralytica vorfand. *Szabo* kam beinahe zu denselben Schlußfolgerungen. *Hayashi* stellt fest, daß ein Zunehmen dieser Kraft bei Verschlimmerungen der Dementia paralytica, Dementia praecox usw. festzustellen ist, derweil dieses Ferment sehr wenig zahlreich oder gar nicht in den Remissionen zu finden war.

Eigene Untersuchungen.

Unsere Untersuchungen beziehen sich auf 40 Fälle der verschiedenen Krankheiten des Nervensystems. Ferner haben wir die Veränderungen der Fermente der Flüssigkeit in drei Fällen der aseptischen Meningitis untersucht. In jedem Falle haben wir die Amylase, die Peroxydase, die Katalase, die antitryptische und tryptische Kraft untersucht. Der Liquor cerebrospinalis wurde den Kranken um 8 Uhr morgens, auf nüchternen Magen, entnommen und gleich analysiert. Wir haben nur *die* untersucht, die kein Blut enthielten, was einem technischen Fehler, als wir die Punktion vornahmen, zuzuschreiben ist. Um jeden Irrtum zu vermeiden, haben wir die Pyramidonreaktion auf etwa vorhandenes Blut ausgeübt. Gleichzeitig haben wir in jeder Flüssigkeit die Eiweißkörper dosiert und die Globuline und Zellelemente gesucht, um besser das Verhältnis zwischen dem Fermentgehalt und diesen verschiedenen Faktoren festzustellen.

Die bei dieser Bestimmung angewendeten Methoden sind die bekannten. Wir werden hier nicht ihre eingehende Beschreibung bringen, wir werden aber, was jede Methode anlangt, einiges bemerken, um besser die unternommene Art und Weise zu verstehen.

Die *Amylase* wurde durch *Wohlgemuths* Methode untersucht. Die benutzte Stärkeauflösung war die 1 prom., wie der obengenannte Autor sie für die Blutamylase gebraucht. Mit dieser Verdünnung kann man die sehr kleine Menge dieser Fermente nachweisen, was nicht mit der von *Hayashi* gebrauchten 1 proz. Stärkeauflösung möglich ist.

Die diastatische Kraft ist in der folgenden Formel gegeben:

$$D^{38^0}_{24\,\mathrm{h}} = \frac{2\,.\,1}{a}\,.$$

2 = die Zahl der Kubikzentimeter der Stärkeauflösung, die für jedes Röhrchen gebraucht wurde;

1 = ein Kubikzentimeter von Flüssigkeit;

a = der Titer der Auflösung des letzten Röhrchens, der nicht mehr die blaue Stärkeauflösung gibt.

Die *Peroxydase* wurde durch die klassische Methode *Bourquelots* erforscht.

Für die *Katalase* haben wir die von *Morgulius* angegebene und von *Rona* und *Damboviceanu* (13) modifizierte Methode für die Untersuchung dieses Ferments in Organen gebraucht.

Man macht die notwendigen Korrektionen der Temperatur und des atmosphärischen Druckes nach der Formel:

$$V_0 = \frac{v\,.\,273}{273 + t}\cdot\frac{b}{760}\,.$$

v = der erlangte Gasraumteil;

273 = der Koeffizient der absoluten Temperatur;

b = der atmosphärische Druck zur Zeit des Versuchs;

t = die Temperatur des Laboratoriums.

Das Antitrypsin wurde nach *Fuld-Gross'* Methode untersucht. Man nimmt für jedes Röhrchen 2 ccm der 1 prom. Caseinauflösung. Der antitryptische Titerwert wurde nach der folgenden Formel berechnet:

$$\text{Ant. T.}\,^{38^0}_{30'} = (a_1 - a)\,.\,10.$$

a_1 = der Titer der durch das Antiferment neutralisierten Flüssigkeit;

a = der Titer des Trypsins;

10 = die Verdünnung der Spinalflüssigkeit.

Wir haben gleichfalls Untersuchungen angestellt, die *tryptischen Fermente* des Liquor betreffend, gleichfalls nach *Fuld-Gross'* Methode.

Die angewendete Caseinauflösung war für jedes Röhrchen 0,5 ccm der 1 prom. Auflösung. Das Resultat ergibt sich aus der Formel:

$$T.\frac{38^0}{60^t} = \frac{0{,}50 \,.\, 1}{a},$$

0.50 = die Zahl der für jedes Röhrchen angewendeten Kubikzentimeter der Caseinauflösung;

1 = 1 ccm der Spinalflüssigkeit;

a = die Verdünnung in den letzten Röhrchen, die nicht mehr die Caseinreaktion gibt.

Wir geben nachfolgend in einigen Tabellen die erlangten Ergebnisse.

Postencephalitische Zustände (Parkinsonismus).

Beinahe alle Kranken, die dieser Gruppe angehören, haben die akute Phase der Encephalitis letargica 3 oder 4 Jahre vor der jetzigen Prüfung gehabt.

Name	Alter Jahre	Amylolytische Kraft	Peroxydase	Katalase	Antitryptische Kraft	Tryptische Kraft	Globuline	Blutreaktion	Lymphocyten
A. Z. . .	15	4	0	0	0	0,5	+	—	2
C. H. . .	17	4	0	0	0	0,5	—	—	1
S. M. . .	18	4	0	0	0	1	—	—	0,5
A. R. . .	21	2	0	0	3	1	+	—	4
A. F. . .	25	2	0	0	0	1	—	—	1
T. A. . .	26	0	0	0	0	1	—	—	0,4
V. I. . .	26	0	0	0	0	0,5	—	—	0,5
A. D. . .	27	4	0	0	0	1	—	—	1
St. A. . .	27	0	0	0	0	0,5	—	—	0,5
B. M. . .	30	0	0	0	0	1	—	—	1
P. H. . .	30	0	0	0	0	1	—	—	1
Z. G. . .	40	0	0	0	0	1	—	—	0,5
D. L. . .	27	4	0	0	1	1	—	—	2

Wir können folgendes ersehen:

1. Aus dreizehn Fällen von Parkinsonismus konnte man siebenmal das Vorhandensein einer Amylase des Liquor feststellen. Die Abwesenheit dieses Ferments in den anderen sechs Fällen ist von uns als normal angenommen, obgleich einige andere Forscher, wie *Kafka*, *Szabo*, angeben, daß auch bei dem gesunden Menschen die Amylase in der Spinalflüssigkeit zu finden ist.

2. Kein Fall zeigte uns die Anwesenheit der Peroxydase oder Katalase an, woraus zu schließen ist, daß es keine Zellreaktion gibt.

3. Die tryptischen Fermente wurden in allen Fällen vorgefunden, schwankend zwischen 0,5 bis 1.

4. All dieses beweist uns, daß die Spinalflüssigkeit der Parkinsonisten, was die Fermente anlangt, im allgemeinen beinahe wie die normale Flüssigkeit ist.

Progressive Paralysis.

Wir haben eine Reihenfolge von Fällen nachgeprüft, die genug vorgerückte Störungen darboten.

Name	Alter Jahre	Amylolytische Kraft	Peroxydase	Katalase	Tryptische Kraft	Antitryptische Kraft	Blutreaktion	Globuline (*N. Apelt*)	Lymphocyten
F. H. . .	45	4	0	0	0,5	1	—	+	3
T. J. . .	35	4	0	0	1	0	—	++	29
Z. B. . .	40	4	0	0	0,5	2	—	++	12
C. G. . .	36	2	0	0	1	2	—	++	14
B. G. . .	37	8	0	0	1	4	—	++	6
L. N. . .	43	4	0	1,1	1	0	—	++	3

Aus dieser Tabelle wird folgendes festgestellt:

1. In allen sechs geprüften Fällen wurde die Amylase gefunden. Ihr Titerwert war genug groß, schwankend zwischen 2 bis 8.

2. Die Peroxydase wurde niemals gefunden, nur in einem einzigen Falle merkte man eine leichte katalatische Kraft, obgleich jede Zellreaktion abwesend war.

3. In allen Fällen bemerkte man eine leichte tryptische Kraft und nur viermal das Vorhandensein des Antitrypsins.

Hirnhautentzündung.

Wir haben die Fermente von sechs Meningitisfällen nachgeforscht. In vier Fällen bemerkte man eine bedeutende Polynucleose, in den anderen Lymphocytose.

Name	Alter Jahre	Diagnosticum	Amylolytische Kraft	Peroxydase	Katalase	Tryptische Kraft	Antitryptische Kraft	Blutreaktion	Globulinreaktion	g Albumine Prom.	Zellelemente in 1 ccm		
											Polynucleose	Lymphocyten	Hematien
T. N.	46	Septische Meningitis	16	+++	38,5	0	8	+	+	1,20	400	20	15
O. H.	42		16	+	5				+	0,60	20	5	2
A. V.	15		16	++	11,1	0	1	+	+	0,75	150	20	4
A. M.	39	Tuberkulöse Meningitis	10	++	10,7	1	6	—	+	0,80	200	80	0
F. V.	29		2	0	1,9				+	0,65	4	50	0
C. P.	40	Luet. Meningitis	4	0	0	1	2	—	++	0,50	6	190	0

Aus den untersuchten Fällen ergibt sich also folgendes:

1. Die Anwesenheit der Amylase war immer festgestellt. In den vier starken polynuclearischen Reaktionsfällen hatte dieses Ferment einen bedeutenden Titerwert (10 bis 16). In den anderen zwei Fällen mit lymphocytärer Reaktion war diese Kraft viel kleiner.

2. Die Peroxydase wurde nicht bemerkt als nur in den vier Fällen mit Polynucleose.

3. Die Katalase wurde in fünf der sechs Fälle festgestellt, wechselnd zwischen 1,9 bis 38,5. Das Verhältnis dieser Katalase zu den polynucleären Leucocyten ist augenscheinlich.

4. In zwei von den vier geprüften Flüssigkeiten konnte man keine tryptische Kraft bemerken; eine antitryptische Kraft war aber immer anwesend, wechselnd zwischen 1 bis 8.

Myopathien.

Name	Alter Jahre	Amylolytische Kraft	Peroxydase	Katalase	Tryptische Kraft	Antitryptische Kraft	Blutreaktion	Globulinreaktion	Lymphocyten
M. D. .	14	4	0	0	0,5	1	—	—	0,5
I. S. . .	18	8	0	0	1	2	—	—	1
S. P. . .	10	4	0	0	1	1	—	—	1
M. G. . .	21	0	0	0	1	1	—	—	0,5

Die erhaltenen Schlußfolgerungen zeigen uns die Veränderungen der Fermente der Flüssigkeit an, auch bei dieser Krankheit, in der man — nach der Meinung der Klassiker — keine Läsion im Zentralnervensystem findet.

In Wirklichkeit fanden wir:

1. In dreien der vier Fälle war die Amylase anwesend und betrug die gleichen Zahlen, die bei der Dementia paralytica angegeben sind.

2. Die Anwesenheit der Peroxydase oder Katalase war niemals bemerkt worden.

3. Immer aber waren die tryptischen Fermente vorhanden, und man fand gleichfalls in allen Fällen eine schwache antitryptische Kraft. Wenn wir annehmen, daß die normale Flüssigkeit keine antitryptische Kraft besitzt, sehen wir gleich, daß ihr Vorhandensein bei den Myophaten als ein pathologischer Zustand anzusehen ist. Diese Tatsachen, wie auch die gesteigerte Anwesenheit einer Amylase, zeigen an, daß in dem Zentralnervensystem der Myophaten Störungen stattfinden, die sich in der Veränderung in den Fermenten der Flüssigkeit verwandeln, die andererseits, von dem Standpunkt der Zelleiweißreaktion aus gesehen, normal bleiben.

Die amyotrophische Lateralsklerose.

Name	Alter Jahre	Amylolytische Kraft	Peroxydase	Katalase	Tryptische Kraft	Antitryptische Kraft	Blutreaktion	Globulinreaktion	Lymphocyten
C. I. . .	44	4	0	2	1	0	—	—	2
I. Ch. . .	26	4	0	0	0	1	—	—	1

1. Bei dieser Krankheit war die Amylase in beiden Fällen anwesend und ihr Gehalt genug bemerkbar.

2. Die Peroxydase wurde nicht gefunden, aber in einem Falle war eine leichte katalatische Kraft in Abwesenheit jeder Zellreaktion bemerkbar.

3. Die tryptische und antitryptische Kraft schwankte zwischen normalen Grenzen.

Geschwülste des Rückenmarks.

Wir haben die Gelegenheit gehabt, die Spinalflüssigkeit in drei Fällen von dem Geschwulst des Rückenmarks zu prüfen. Wir haben nur die lumbale Flüssigkeit untersucht. Die Schlußfolgerungen sind die nachfolgenden:

Name	Alter Jahre	Diagnosticum	Amylolytische Kraft	Peroxydase	Katalase	Tryptische Kraft	Antitryptische Kraft	Blutreaktion	Globulinreaktion	g Albumine	Lymphocyten
St. I. . .	24	Metastatischer Krebs d. Wirbelsäule und des Rückenmarks	16	0	1,4	0,5	8	—	+++	4	2 (lumbale Flüssigkeit)
Gr. P. . .	34		16	0	1,5	0,5	4	—	++++	6,25	1 (lumbale Flüssigkeit)
C. I. . .	43	Cervikale Pachimeningitis	16	0	0	1	1	—	++	0,70	1 (lumbale Flüssigkeit)

Die Untersuchungen, die in den Fällen von Rückenmarksgeschwülsten gemacht wurden und in der Tabelle angemerkt sind, zeigen also folgendes:

1. In allen drei Fällen ist die amylolytische Kraft sehr hoch (16).

2. Die Peroxydase war in keinem Falle anwesend.

3. In zwei Fällen bemerkte man eine leichte katalatische Kraft in totaler Abwesenheit der Polynucleose und des Blutes.

4. Das Trypsin wechselte zwischen den normalen Grenzen.

5. Die antitryptische Kraft hat deutlich zugenommen in den zwei ersten Fällen, wo es sich gewiß um eine maligne Geschwulst handelte; war aber null in den anderen Fällen, wo vielmehr die Rede von einer cervikalen Pachimeningitis war.

Wenn wir uns erinnern, daß man bei den Krebskranken ein Zunehmen der antitryptischen Kraft des Serums gefunden hat, sehen wir gleich, daß es einen Zusammenhang gibt, wenigstens in der Flüssigkeit, die aus der Gegend unterhalb des Druckes abgenommen wurde, zwischen der Zunahme des Antitrypsins im Liquor und im Serum.

Andere verschiedene Krankheiten.

Name	Alter Jahre	Diagnosticum	Amylolytische Kraft	Peroxydase	Katalase	Tryptische Kraft	Antitryptische Kraft	Blutreaktion	Globuline	Lymphocyten
I. A. . .	1	Amaurotische Idiotie .	0	0	0	0	0	—	—	0,5
A. J. . .	35	Myasthenie	0	0	0	0,5	1	—	—	1
P. T. . .	34	Cerebrale Hämoragie . .	4	0	0	0,5	0	—	—	2
E. R. . .	30	Chronische Chorea . .	8	—	0	0	2	—	—	2
E. C. . .	43	Chronisch.Alkoholismus	4	—	0	0,5	1	—	+	3

Die Untersuchungen zeigen folgendes an:

1. Die Spinalflüssigkeit war normal, was die Fermente anlangt in einem Falle von amaurotischer Idiotie und bei einem Myastheniker.

2. In den Fällen von chorea chronika und chronischem Alkoholismus hat die amylolytische und antitryptische Kraft der Flüssigkeit zugenommen.

Wir hatten Gelegenheit, bei drei Parkinsonisten zu therapeutischen Zwecken subarachnoideale Injektionen mit 15 ccm Autoserum zu machen, und so haben wir die Erscheinungen und Veränderungen der Fermente der Flüssigkeit studiert, nachdem 24 Stunden seit der Einspritzung verflossen waren, bis zur 120. Stunde nach der Einspritzung, wenn jede Hirnhautreaktion verschwunden war.

Unsere Schlußfolgerungen sind in der Tabelle auf folgender Seite festgelegt.

Daraus ersehen wir folgendes:

1. Das Erzeugnis einer serischen Meningitisreaktion bringt ein Zunehmen der amylolytischen Fermente der Flüssigkeit, der Peroxydase und Katalase. Der Gehalt an Trypsin und Antitrypsin erleidet keine Änderung.

2. Die Erscheinung oder das Zunehmen der Fermente erreicht den größten Wert in der 24. Stunde, wenn wir auch die größten cytoalbuminösen Veränderungen feststellen können. Die Kraft dieser Fermente nimmt gleichzeitig mit dem Zurückkehren der Flüssigkeit zur vorigen Verfassung ab. Nach der 72. Stunde ist die amylolytische Kraft dieselbe wie vor der serischen Hirnhautentzündung und die Peroxydase verschwindet aus der Flüssigkeit, derweil die Katalase auch in der 120. Stunde zu finden ist, hat aber viel mehr abgenommen.

Name		Diastase	Peroxydase	Katalase	Trypsin	Antitrypsin	Pyramidon-reaktion für Blut	Albumine g Prom.	Zellinhalt	Art der Liquorzellen
1. *D. L.*	Liquor cerebrospinalis vor der Injektion	4	0	0	1	1	—	0,30	2	Lymphocyten
	Liquor, 24 Stdn. später, nach subarachn. Injektion	8	++	30,9	1	1	—	1,20	620	50 Proz. Polynucleären 41 Proz. Endothelzellen 9 Proz. Lymphocyten
	Liquor nach 72 Stdn.	8	+	6,9	1	1	—	0,60	500	20 Proz. Lymphocyten. Der Rest ist aus Poly- u. Endothelzellen
	„ 120 „	4	0	2,1	1	1	—	0,40	7	Lymphocyten
	„ 10 Tagen	4	0	0	1	1	—	0,30	3	„
2. *A. B.*	Vor d. Injektion	4	0	0	1	0	—	0,35	2	„
	Nach d. Injektion 24 Stdn.	16	++	41	1	0	—	1,20	1000	Polynucleäre u. Endothelzellen
	72 „	4	0	1,9	1	0	—	0,55	70	10 Proz. Lymphocyten
	120 „	4	0	0	1	0	—	0,40	2	Lymphocyten
3. *A. F.*	Vor d. Injektion	2	0	0	1	0	—	0,30	2	„
	Nach d. Injektion 24 Stdn.	4	+	7,3	1	0	—	1	250	Polynucleäre u. Endothelzellen
	72 „	2	0	0,6	1	0	—	0,60	38	15 Proz. Lymphocyten
	120 „	2	0	0	1	0	—	0,40	6	Lymphocyten
	Serum	64,4	0	35,6	0	30				

Unsere Untersuchungen offenbaren einige Tatsachen, die den Ursprung der Fermente des Liquors aufklären.

1. Die Anwesenheit der Amylase in der Flüssigkeit steht im festen Verhältnis erstens mit dem Vorhandensein der weißen Blutkörperchen, meistens der polynucleären, wie es *Achalme*, zum ersten Male in den Zellelementen des Eiters, gefunden hat. Aber es gibt nicht eine unumschränkte Parallelität zwischen der Zahl der Leucocyten und dem amylolytischen Gehalt. So haben wir eine amylolytische Kraft in den Flüssigkeiten, wo die Zellelemente beinahe gänzlich fehlen, festgestellt, in den Flüssigkeiten, die aber reich an Eiweißstoff sind, wie in den Kompressionen des Rückenmarks, in der Dementia paralytica usw., oder in den normalen Flüssigkeiten vom cytoalbuminösen Standpunkt angesehen, wie die der Parkinsonisten oder der Myophaten. Diese Tatsachen zeigen an, daß es außerhalb der leucocytären Amylase noch eine fremde Amylase gibt, die ihren Ursprung im Blute oder in dem Nervenparenchym hat.

2. Die Erscheinung der Peroxydase in der Flüssigkeit steht immer im Verhältnis mit der Größe der Polynucleose.

3. Die Katalase ist immer im Zusammenhang mit der Peroxydase, aber gleichzeitig wurde sie bemerkt, wenn dieses letzte Ferment abwesend war. So konnten wir seine Anwesenheit in Abwesenheit aller Zellelemente feststellen, wie in einem Falle der Dementia paralytica, in den zwei Fällen des Krebses der Wirbelsäule und in einem Falle von amyotrophischer Lateralsklerose.

Ihr eigentlicher Gehalt war in Wirklichkeit sehr klein. Wie wir aber in diesen Fällen das Vorhandensein dieser Fermente den roten Blutkörperchen nicht zuschreiben können — weil wir die Anwesenheit des Blutes nicht mit dem Mikroskop und auch nicht nach der Pyramidonreaktion feststellen konnten —, darum müssen wir zugeben, daß ihr Ursprung in den eigenen Nervengeweben zu suchen ist, oder — im Falle des Krebses der Wirbelsäule — in den cancerösen Elementen. Andererseits kann man aber auch nicht zugeben, daß sie aus dem Blutserum durch Transsudation ausschließlich entsteht, weil dieses keine besitzt.

4. Was die antitryptische Kraft anlangt, weiß man, daß das Ferment den Eiweißstoffen angehört. Es müßte eigentlich ein Verhältnis bestehen zwischen dem Vorhandensein der Antitrypsine in einer Flüssigkeit und der vorhandenen Menge des Eiweißes. Dieses Verhältnis ist im allgemeinen in der von uns untersuchten Flüssigkeit bemerkt worden, sie ist aber nicht beständig. In Wirklichkeit in den Fällen der aseptischen Meningitis, der Serumeinspritzung folgend, leidet die antitryptische Kraft keine Veränderung, obgleich der Eiweißstoff das Verhältnis von 1 g pro Tausend überschreitet.

Die Studien der Fermente des Liquor cerebrospinalis, die wir unternommen haben, werfen eine neue Frage auf: Bis zu welchem Punkte beweist die Anwesenheit dieser Fermente den Fermentprozeß des eigentlichen Nervengewebes? Wenn wir unsere eigenen Untersuchungen betrachten, sowie auch die von anderen Forschern gemachten Schlußfolgerungen, so können wir behaupten, daß im allgemeinen ein gewisser Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein der Fermente in der Flüssigkeit und in dem Nervengewebe existiert, daß dieser Zusammenhang aber sehr schwankt.

In Wirklichkeit ist festgestellt worden, daß die Katalase sich in großer Menge in den Nervenzentren befindet, wie dies auch *Batelli* und *Stern* (14) fanden. Trotzdem haben wir bemerkt, daß die Katalase außer einer Meningitisreaktion nicht in der Spinalflüssigkeit vorkommt, nur ausnahmsweise. Was die direkt oxydierenden Fermente, deren reiches Vorkommen in den Nervengeweben uns bekannt ist (*Marinesco*) (15), anlangt, kann man ihre beständige Anwesenheit im Liquor (*Cavazzani*, *Szabo* usw.) nur als einen schwachen Widerschein der

biologischen Prozesse, die in dem Innern des Nervengewebes stattfinden, betrachten.

Das gleiche könnte man — wie wir es gesehen haben — auch bei der Amylase sagen. Im allgemeinen sind also die großen Veränderungen der Fermente, die in der Spinalflüssigkeit zu sehen sind, erstens den Veränderungen der Hirnhaut zuzuschreiben und zweitens sind sie der Ausdruck der fermentativen Prozesse, die in nervösem Parenchym stattfinden.

Literatur.

1) *Grober*, Münch. med. Wochenschr. 1900, S. 247. — 2) *Kafka*, Neurol. Zentralbl., 16. Mai 1912. — 3) *J. Szabo*, Zeitschr. f. d. ges. Neurol. u. Psychol. **17**, Heft 2/3, 1913. — 4) *Hayashi*, Monatsschr. f. Psychol. u. Neurol. **51**, Heft 1, 1922. — 5) *Sicard* et *Enriquez*, Les oxydations de l'organisme, 1895. — 6) *Marfan*, *Ménard* et *Saint-Giron*, Bull. et mém. de la soc. médicale des hop de Paris, 1912. — 7) *L. Sabatini*, Pediatria 1922, Nr. 18. — 8) *Cavazzani*, Zentralbl. f. Physiol. **14**, 473, 1900. — 9) *Pighini*, diese Zeitschr. **42**, 124, 1912. — 10) *Barbieri*, ebendaselbst **42**, 137, 1912. — 11) *Lewinson* and *F. C. Becht*, The Journ. of the Amer. medic. Assoc. (Chicago) **74**, Nr. 14, 1920. — 12) *N. Fiessinger*, Arch. de mal. du coeur. Nr. 8, August 1910. — 13) *Rona* und *Damboviceanu*, diese Zeitschr. 1923. — 14) *Batteli* et *Stern*, Journ. de Physiol. et de Path. géner. 1907. — 15) *G. Marinescu*, Ann. d'Anath. pathol. Nr. 2, März 1924.

Sensibilisierung und Schutzwirkung durch Lipoide.

Von

Walter Beck.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für physikalische Chemie und Elektrochemie, Berlin-Dahlem.)

(Eingegangen am 16. Januar 1925.)

Diese Versuche wurden unternommen, um das Verhalten von Lecithin und Cholesterin positiven sowie negativen Solen gegenüber einmal näher zu untersuchen. Über gewisse kolloidchemische Eigenschaften der reinen Lipoide und ihrer Gemische war man ja hauptsächlich durch die Untersuchungen von *Porges* und *Neubauer* (1), sowie *Handovsky* und *Wagner* (2) als auch von *Neuschloss* (3) unterrichtet, und es schien jetzt vor allem wichtig, ob man mit Lipoiden spezifische Sensibilisierung bzw. Schutzwirkung, wie z. B. mit Proteinen und gewissen Kohlenhydraten erhalten worden war, erzielen konnte.

Vielleicht war es weiterhin auf diese Weise möglich, auf kolloidchemischem Wege einen näheren Einblick in den Mechanismus der eigentümlichen biologischen Eigenschaften der Lipoide zu erhalten. Das Lecithin übt ja vor allem eine resistenzerniedrigende Wirkung auf die Erythrocyten aus und fast sämtliche hämolytische Amboceptoren werden in ihrer Wirkung durch Lecithine unterstützt. Diesen Vorgängen gegenüber verhält sich das Cholesterin dagegen durchaus antagonistisch, es hat eine ausgesprochen schützende, inaktivierende Wirkung, so vor allem wieder gegen die verschiedensten Hämolysine. Dieser Lipoidantagonismus ist noch bei verschiedenen anderen normalen und pathologischen Vorgängen, vor allem aber bei bestimmten serologischen Luesreaktionen und der Phagocytose konstatiert worden (4).

Es erschien also wichtig und aufschlußreich, physiologische Sensibilisierung und Schutzwirkung mit einer eventuell vorhandenen kolloidchemischen zu vergleichen.

Eine geeignete Arbeitsmethode bei Sensibilisierungen war hauptsächlich durch die Untersuchungen von *Brossa* und *Freundlich* (5),

sowie *Reitstötter* (6) gegeben worden. So arbeitete letzterer mit Serumproteinen, die auf elektrodialytische Weise hergestellt und gereinigt worden waren, in der Art, daß zu 50 ccm Serumeiweiß unter stetem Umschütteln 4 ccm Fe_2O_3-Sol hinzugesetzt wurden, dann zu je 5 ccm dieser Mischung 1 ccm Elektrolytlösung steigender Konzentration gemengt wurde.

Eine 0,5 proz. Lecithinemulsion (Lec. pur. ex. ovo Agfa) wurde der Elektrodialyse in einer gewöhnlichen, etwa 200 bis 250 ccm fassenden Dreizellenapparatur (Verfahren der Elektro-Osmose-Aktiengesellschaft) unterworfen, wie sie vor allem von *Ruppel* und Mitarbeitern (7) in sehr zweckmäßiger Weise vervollkommnet worden ist und weiterhin von diesen Autoren zu bemerkenswerten serologischen Versuchen benutzt wurde. Die Stromstärke fiel im Laufe von 45 Minuten von 0,15 Amp. bis 50 Milliamp. In dieser Zeit hatte sich schon eine beträchtliche Menge abgeschieden, und auf dem anodischen Diaphragma hatte sich infolge von Kataphorese eine weiße Schicht niedergeschlagen. Es gelang aber bei der Elektrodialyse auch von stärkeren Hydrosolen nicht, zu konzentrierteren, hochgradig elektrolytfreien Lecithinen zu kommen, deshalb wurde vorerst mit 1,11 proz. Solen gearbeitet. Der Gehalt aller auf diese Weise hergestellten und klar filtrierten Lecithinhydrosole schwankte zwischen 0,12 bis 0,18 Proz. Er wurde nach der Methode von *Bang* (8) ermittelt; 0,5 ccm Sol wurden mit 3 ccm n/10 $K_2Cr_2O_7$-Lösung versetzt und dann zur vollen Oxydation mit 7 ccm konzentrierter Schwefelsäure. Die nicht verbrauchte Menge an Bichromat wurde jodometrisch bestimmt und der Gehalt an Fettsäure auf Phosphatid umgerechnet. Das hier benutzte Fe_2O_3-Sol war ebenfalls auf elektrodialytischem Wege gereinigt worden, worüber näheres in einer anderen Untersuchung berichtet werden soll.

Nach verschiedenen Versuchen, eine möglichst starke Sensibilisierung zu erzielen, hat sich eine folgende Versuchsanordnung, ähnlich der oben erwähnten, am besten bewährt. 4 ccm Fe_2O_3-Sol von 0,6 Proz. wurden mit 50 ccm Wasser verdünnt und zu diesem Gemisch 4 ccm des 0,11 proz. Lipoidsols tropfenweise, langsam und unter stetem Umschütteln zugegeben. Man erhält dann eine kaum getrübte Flüssigkeit. Größere Mengen an Fe_2O_3-Sol oder an Lecithin erzeugen stärkere Trübung, die bis zur Flockung gehen kann. Dann wurden zu je 5 ccm der obigen Mischung 1 ccm Elektrolyt in steigender Konzentration hinzugegeben. Die folgende Zusammenstellung zeigt das Ergebnis der Flockungsversuche mit $NaCl$, $BaCl_2$, K_2SO_4 und Natriumsalicylat. Die Salzkonzentrationen beziehen sich auf die Werte nach dem Verdünnen durch das Sol. Die Beobachtungszeit war auch hier wieder zwei Stunden.

Tabelle Ia.

4 ccm Fe_2O_3-Sol (0,6 proz.) mit 50 ccm H_2O verdünnt und mit 4 ccm Lecithinhydrosol (0,11 proz.) versetzt.

Nr.	Elektrolytkonzentration Millimol i. Liter	Fällung von rein. Fe_2O_3-Sol mit NaCl	Fällung von Fe_2O_3-Lec.-Sol mit NaCl	Fällung von rein. Fe_2O_3-Sol mit $BaCl_2$	Fällung von FeO_3-Lec.-Sol mit $BaCl_2$
1	0,195	klar	klar	klar	klar
2	0,391	„	„	„	„
3	0,781	„	„	„	„
4	1,56	„	„	„	„
5	3,13	„	leicht getr.	„	leicht getr.
6	6,25	„	„ „	„	„ „
7	12,5	„	„ „	„	trübe
8	25	„	trübe	„	stark getr.
9	50	„	„	„	„ „
10	100	leicht getr.	stark getr.	leicht getr.	„ „
11	200	gefällt	„ „	gefällt	„ „

Tabelle Ib.

4 ccm Fe_2O_3-Sol (0,6 proz.) mit 50 ccm H_2O verdünnt und mit 4 ccm Lecithinhydrosol (0,11 proz.) versetzt.

Nr.	Elektrolytkonzentration Millimol i. Liter	Fällung von rein. Fe_2O_3-Sol mit K_2SO_4	Fällung von Fe_2O_3-Lec.-Sol mit K_2SO_4	Fällung von rein. Fe_2O_3-Sol mit Na-Salicylat	Fällung von Fe_2O_3-Lec.-Sol mit Na-Salicylat
1	0,195	klar	gefällt	klar	trübe
2	0,391	gefällt	„	„	„
3	0,781	„	„	leicht getr.	„
4	1,56	„	„	trübe	„
5	3,13	„	„	„	gefällt
6	6,25	„	„	gefällt	„
7	12,5	„	„	„	„
8	25	„	„	„	„
9	50	„	„	„	„
10	100	„	„	„	„
11	200	„	„	„	„

Das reine Lecithinsol wurde, da es außerordentlich verdünnt war, in keiner Konzentration von den genannten Elektrolyten gefällt.

Das Lipoidsol ist also nach der obigen Tabelle außerordentlich aktiv. Es ist merklich wirksamer als Serumalbumin, das bis jetzt als der stärkste Sensibilisator galt, wie eine folgende Nebeneinanderstellung zeigen wird. Hierbei muß man noch die großen Konzentrationsunterschiede berücksichtigen, indem man nach dem Verdünnen durch das Fe_2O_3-Sol eine 0,56 proz. Proteinlösung erhält, aber nur eine 0,0076 proz. Lipoidlösung.

Ferner ist wohl ein großer Molekulargewichtsunterschied zu berücksichtigen; Serumalbumin hat nach *Sörensen* ein Molekulargewicht von etwa 30000, Lecithin dagegen wohl eins von wenigen Tausend.

Tabelle II.

Albuminsol aus humanem Blutserum; davon 25 ccm von 0,6proz. Eiweiß mit 1 ccm $Fe(OH)_3$-Sol von 0,649 proz. $Fe(OH)_3$ vermengt (*Reitstötter*). Lecithinsol (Lec. pur. ex ovo. Agfa); davon 2 ccm von 0,11proz. Lecithin mit 25 ccm H_2O verdünnt und mit 2 ccm Fe_2O_3-Sol (0,6proz.) vermengt.

Nr.	Elektrolyt-konzentration Millimol i. Liter	Fällung von rein. Fe_2O_3-Sol mit NaCl	Fällung von Fe_2O_3-Alb.-Sol mit NaCl	Fällung von rein. Fe_2O_3-Sol mit NaCl	Fällung von Fe_2O_3-Lec.-Sol mit NaCl
1	0,195	klar	ungef. klar	klar	klar
2	0,391	"	schw. getr.	"	"
3	0,781	"	trübe	"	"
4	1,56	"	"	"	"
5	3,13	"	voll gefällt	"	leicht getr.
6	6,25	"	" "	"	" "
7	12,5	"	" "	"	" "
8	25	"	trübe	"	trübe
9	50	trübe	schw. getr.	"	"
10	100	"	ungef. klar	leicht getr.	stark getr.

Es soll hierbei gleich erwähnt werden, daß man am besten mit nicht älteren als 10tägigen Lecithinemulsionen arbeiten soll, die möglichst steril und kühl aufbewahrt werden müssen. Ältere Präparate werden merklich empfindlicher und scheiden bald unter Zersetzungserscheinungen Flocken ab. Es wäre nun möglich gewesen, daß das von uns benutzte Agfa-Lecithin vielleicht einen sehr großen Eiweißgehalt hätte haben können, wodurch die äußerst starke Sensibilisierung zum Teil erklärt werden könnte (Lecithin-Globulinbildung). Aber entsprechende Untersuchungen bei *Kahlbaum*schen und *Merck*schen Präparaten ergaben dieselben Trübungswerte.

Es wurde weiterhin untersucht, wie sich Lecithinsol einem negativen hydrophoben Sol, dem $Mo_2O_5 \cdot H_2O$-Sol gegenüber verhält.

Tabelle III.

6 ccm $Mo_2O_5 \cdot H_2O$-Sol (0,5proz.) mit 45 ccm H_2O verdünnt und mit 4 ccm Lecithinsol (0,11 proz.) versetzt.

Nr.	Elektrolyt-konzentration Millimol i. Liter	Fällung von rein. Mo_2O_5-Sol mit NaCl	Fällung von Mo_2O_5-Lec.-Sol mit NaCl
1	0,195	klar	klar
2	0,391	"	"
3	0,781	"	"
4	1,56	"	"
5	3,13	"	"
6	6,25	"	"
7	12,5	"	leicht getr.
8	25	"	trübe
9	50	"	"
10	100	gefällt	gefällt

Wie ersichtlich, findet in diesem Falle ebenfalls eine ausgesprochene Sensibilisierung statt, wenn sie auch nicht ganz so intensiv ist, wie beim Fe_2O_3-Sol. Es entspricht dieses Verhalten übrigens durchaus dem gewisser Serumeiweißkörper (nach noch unveröffentlichten Versuchen). Andererseits bilden diese Beobachtungen eine gute Ergänzung zu den Versuchen von *Brossa*. Es gelang ihm, positive und negative Farbstoffsole durch Tannin zu sensibilisieren (9). Auch bei uns sensibilisiert ein nicht amphoterer Stoff positiv und negativ geladene Sole, die noch weit ausgesprochener hydrophob und definierter sind als die Farbstoffe. Vielleicht darf man daher für die Lipoide genau so einen bipolaren Bau der Molekel annehmen, wie man ihn beim Tannin und beim Eiweiß geneigt ist, anzunehmen, und auch hier wie dort könnte man die Sensibilisierung als Dehydratationsvorgang auffassen.

Wir kommen jetzt zu den entsprechenden Versuchen mit Cholesterin. Diese Sole wurden in der Weise hergestellt (10), daß man eine Lösung von Cholesterin in absolutem Alkohol zum Sieden erhitzte und diese Lösung zu einer etwa 4fachen Menge ebenfalls zum Sieden erhitzten Wassers, das sich in einem Jenaer Rundkolben befand, unter stetem Umschütteln, ziemlich schnell, aber partienweise hinzugab. Der überschüssige Alkohol wurde durch längeres Erhitzen abgedunstet und dann aufgefüllt. Bei den Messungen wurde genau so wie beim Lecithin gearbeitet.

Tabelle IV a.

4 ccm Fe_2O_3-Sol (0,6proz.) mit 50 ccm H_2O verdünnt und mit 4 ccm Cholesterinsol (0,11proz.) versetzt.

Nr.	Elektrolytkonzentration Millimol i. Liter	Fällung von rein. Fe_2O_3-Sol mit NaCl	Fällung von Fe_2O_3-Cholest.-Sol mit NaCl	Fällung von rein. Cholest.-Sol mit NaCl
1	0,195	klar	leicht getr.	klar
2	0,391	"	" "	"
3	0,781	"	" "	"
4	1,56	"	trübe	"
5	3,13	"	"	"
6	6,25	"	"	leicht getr.
7	12,5	"	"	" "
8	25	"	"	" "
9	50	"	stark trübe	stark trübe
10	100	leicht getr.	" "	" "
11	200	gefällt	" "	" "

Man erhält also ebenfalls mit Cholesterin eine ausgesprochene, wenn auch nicht so starke Sensibilisierung wie mit Lecithin.

Tabelle IVb.

6 ccm $Mo_2O_5 . H_2O$-Sol (0,5proz.) mit 45 ccm H_2O verdünnt und mit 4 ccm Cholesterinsol (0,11proz.) versetzt.

Nr.	Elektrolytkonzentration Millimol i. Liter	Fällung von rein. Mo_2O_5-Sol mit NaCl	Fällung von Cholest.-Mo_2O_5-Sol mit NaCl	Fällung von rein. Cholest.-Sol mit NaCl
1	0,195	klar	klar	klar
2	0,391	"	"	"
3	0,781	"	leicht getr.	"
4	1,56	"	" "	"
5	3,13	"	" "	"
6	6,25	"	" "	leicht getr.
7	12,5	"	" "	" "
8	25	"	stark trübe	" "
9	50	"	" "	stark trübe
10	100	gefällt	gefällt	" "
11	200	"	"	" "

Nun wurden auch Lipoidgemische in der oben erwähnten Weise untersucht, um zu sehen, ob eventuell eine gegenseitige Beeinflussung der Lipoide zu konstatieren war. Wenn man Lecithin mit größeren Mengen Cholesterin oder umgekehrt behandelt, so tritt eine immer stärkere, bis zur Fällung gehende Trübung auf. Man muß deshalb mit geeigneten Mengen arbeiten. Es zeigte sich indessen bei diesen Versuchen mit Gemischen keine Beeinflussung von Lecithin durch Cholesterin. Das Lecithin behält weitgehend sein Verhalten bei, auch bei einem Verhältnis von 10 ccm Lecithin zu 7 ccm Cholesterin. Dies zeigt folgende Übersicht.

Tabelle V.

4 ccm Fe_2O_3-Sol (0,6proz.) mit 50 ccm H_2O verdünnt und mit 4 ccm eines Gemisches von 10 ccm Lecithin (0,11proz.): 7 ccm Cholesterin (0,11proz.) versetzt.

Nr.	Elektrolytkonzentration Millimol i. Liter	Fällung von rein. Fe_2O_3-Sol mit NaCl	Fällung von Fe_2O_3-Lipoidgemisch mit NaCl	Fällung von rein. Lipoidgemisch mit NaCl
1	0,195	klar	klar	klar
2	0,391	"	"	"
3	0,781	"	"	"
4	1,56	"	"	"
5	3,13	"	leicht getr.	"
6	6,25	"	" "	"
7	12,5	"	" "	"
8	25	"	stark trübe	"
9	50	"	" "	"
10	100	leicht getr.	" "	"

Weiterhin wurde geprüft, wie sich Lipoid-Serumalbuminkomplexe verhielten. Diese Untersuchungen wurden so ausgeführt, daß zuerst 50 ccm eines auf elektrodialytische Weise von Euglobulin befreiten

Blutserums (7) mit 4 ccm Lecithinsol vermischt wurden. Darauf wurde das Fe_2O_3-Sol hinzugegeben. Der Gehalt der Eiweißlösungen wurde auf refraktometrische Weise bestimmt, er betrug bei diesen Versuchen 0,6 Proz. Die hierbei vorübergehend auftretende Trübung verschwand indessen nicht so glatt, als wenn man reines Albuminsol mit Fe_2O_3-Sol versetzt. Wir gaben daher 6,5 ccm Fe_2O_3-Sol hinzu, während man sonst mit 4 ccm auskommt. Auch hier zeigte sich weder eine Beeinflussung der Sensibilisierungsgröße des reinen Lecithins, noch des Lipoidgemisches, noch des Sterins durch die Gegenwart des Proteinsols.

Tabelle VIa.

4 ccm Lecithin (0,11 proz.) mit 50 ccm Pferdeserumalbumin (0,6 proz.) versetzt und das Gemisch mit 0,5 ccm Fe_2O_3-Sol (0,6 proz.) versetzt.

Nr.	Elektrolytkonzentration Millimol i. Liter	Fällung von rein. Fe_2O_3-Sol mit NaCl	Fällung von Fe_2O_3-Alb.-Sol mit NaCl	Fällung von Fe_2O_3-Alb.-Lec.-Sol mit NaCl	Fällung von Alb.-Lec.-Sol mit NaCl
1	0,195	klar	klar	klar	klar
2	0,391	"	"	"	"
3	0,781	"	"	"	"
4	1,56	"	"	"	"
5	3,13	"	leicht getr.	leicht getr.	"
6	6,25	"	" "	" "	"
7	12,5	"	stark trübe	stark trübe	"
8	25	"	" "	" "	"
9	50	"	" "	" "	"
10	100	leicht getr.	leicht getr.	" "	"

Tabelle VIb.

4 ccm eines Gemisches von 10 ccm Lecithin (0,11 proz.) : 7 ccm Cholesterin (0,11 proz.) mit 50 ccm Pferdeserumalbumin (0,6 proz.) und mit 0,5 ccm Fe_2O_3-Sol (0,6 proz.) versetzt.

Nr.	Elektrolytkonzentration Millimol i. Liter	Fällung von rein. Fe_2O_3-Sol mit NaCl	Fällung von Fe_2O_3-Alb.-Lipoidgemisch mit NaCl	Fällung von rein. Lipoidgemisch mit NaCl	Fällung von Alb.-Lipoidgemisch mit NaCl
1	0,195	klar	klar	klar	klar
2	0,391	"	"	"	"
3	0,781	"	"	"	"
4	1,56	"	"	"	"
5	3,13	"	leicht getr.	"	"
6	6,25	"	" "	"	"
7	12,5	"	stark trübe	"	"
8	25	"	" "	"	"
9	50	"	" "	"	"
10	100	leicht getr.	" "	"	"

Rein zufälligerweise haben wir hier beim Fe_2O_3- und Lecithinsol denselben Trübungswert wie beim Fe_2O_3-Serumalbuminsol.

Eine übersichtliche Zusammenstellung der hier beobachteten Verhältnisse bietet die Aufstellung der Trübungswerte der verschiedenen Sole.

Tabelle VIIa.

Trübungswerte vom reinen und sensibilisierten Fe_2O_3-Sol.

Nr.	Art des Sols	Trübungswert	Nr.	Art des Sols	Trübungswert
1	Rein. Fe_2O_3-Sol . .	75	6	Fe_2O_3-Albumin-Sol .	2,35
2	Fe_2O_3-Lec.-Sol . . .	2,55	7	Lec.-Alb.-Sol	2,35
3	Rein. Cholest.-Sol .	4,69	8	Fe_2O_3-Alb.-Lipoidgemisch	2,55
4	Fe_2O_3-Cholest.-Sol .	$< 0,293$			
5	Fe_2O_3-Lipoidgemisch	2,35			

Tabelle VIIb.

Trübungswerte von reinem und sensibilisiertem Mo_2O_5-Sol.

Nr.	Art des Sols	Trübungswert	Nr.	Art des Sols	Trübungswert
1	Rein Mo_2O_5-Sol. . .	75	3	Rein Cholest.-Sol. .	4,69
2	Mo_2O_5-Lec.-Sol . . .	9,38	4	Mo_2O_5-Cholest.-Sol .	0,586

Wir stellten schließlich, durch die *Brossa*schen Versuche mit Serumeiweißen angeregt, noch eine Reihe von Experimenten mit Farbstoffsolen[1]), vor allem dem negativ geladenen Kongorot an (9). Es wurde mit 0,1 proz. Farbstofflösungen gearbeitet. Bei diesen weniger empfindlichen Farbstoffsolen empfahl es sich indessen, um den Effekt zu verstärken, mit konzentrierteren Lipoidsolen zu arbeiten. Wir verwandten 0,5 proz. Lösungen. Aus den oben erwähnten Gründen mußte dann aber auf eine elektrodialytische Reinigung verzichtet werden. Bei unseren Versuchen trat nicht, wie bei den entsprechenden *Brossa*schen, mit Euglobulinsuspensionen eine direkte Peptisation der Flocken auf, sondern die Lösung blieb bis zu einer gewissen Menge an zugesetztem Lipoid nur ganz wenig getrübt und wurde bei zunehmendem Lecithingehalt sichtlich trüber und schließlich gefällt. Es empfahl sich, wie bei einer Reihe von Versuchen festgestellt wurde, zu 50 ccm Kongorot 6 ccm des Lipoidhydrosols hinzuzusetzen und wie oben erwähnt weiter zu arbeiten.

Hier war nun ein durchaus anderes Verhalten zu konstatieren, als man vorher bei den anorganischen Solen beobachtet hatte. Vorerst

[1]) Es wurde zu den Versuchen ein nichtdialysiertes Kongorotsol benutzt. Nach neueren Beobachtungen, die hier gemacht worden sind, hat es den Anschein, als ob durch die Entfernung von Elektrolyt aus dem Ausgangssol die Sensibilisierungseffekte verschoben würden.

zeigte sich eine bedeutend größere Elektrolytempfindlichkeit des 0,5 proz. Lecithinsols als des 0,1 proz. Bemerkenswert war aber weiterhin das Verhalten der Lecithinfarbstoffkomplexe zu den Cholesterinfarbstoffkomplexen. Es entstehen hier auffallenderweise im ersten Falle empfindlichere, im zweiten Falle geschütztere Sole. Man kann sagen, daß Lecithin plus Kongorot und Cholesterin plus Kongorot in bezug auf Elektrolytfällung sich antagonistisch verhalten.

Tabelle VIII.

50 ccm Kongorotsol (1 prom.) mit 6 ccm Lecithin (0,5 proz.) versetzt.

Nr.	Elektrolytkonzentration Millimol i. Liter	Fällung von rein. Kongorot-Sol mit NaCl	Fällung von rein. Lec.-Sol mit NaCl	Fällung von Kongorot-Lec.-Sol mit NaCl
1	0,195	klar	klar	klar
2	0,391	„	„	„
3	0,781	„	„	„
4	1,56	„	„	leicht getr.
5	3,13	„	leicht getr.	„ „
6	6,25	„	„ „	„ „
7	12,5	„	„ „	„ „
8	25	„	trübe	trübe
9	50	„	„	„
10	100	„	„	„
11	200	„	stark trübe	„
12	400	gefällt	„	„

Tabelle IX.

50 ccm Kongorotsol (1 prom.) mit 6 ccm Cholesterinsol (0,5 proz.) versetzt.

Nr.	Elektrolytkonzentration Millimol i. Liter	Fällung von rein. Kongorot-Sol mit NaCl	Fällung von rein. Cholest.-Sol mit NaCl	Fällung von Kongorot-Cholest.-Sol mit NaCl
1	0,195	klar	klar	klar
2	0,391	„	„	„
3	0,781	„	„	„
4	1,56	„	„	„
5	3,13	„	„	„
6	6,25	„	„	„
7	12,5	„	leicht getr.	„
8	25	„	stark trübe	„
9	50	„	gefällt	„
10	100	„	„	leicht getr.
11	200	„	„	„ „
12	400	gefällt	„	trübe

Auch zeigt sich bei Gemischen von Phosphatid und Sterin, daß das letztere sichtliche Schutzwirkung ausübt. Dies macht sich schon bei geringeren Konzentrationen an Cholesterin bemerkbar. Vor allem besonders deutlich im Falle von Tabelle X.

Tabelle X.

50 ccm Kongorotsol (1 prom.) mit 6 ccm eines Lipoidgemisches von 10 ccm Lecithin (0,5 proz.) : 7 ccm Cholesterin (0,5 proz.) versetzt.

Nr.	Elektrolytkonzentration Millimol i. Liter	Fällung von rein. Kongorot-Sol mit NaCl	Fällung von rein. Lipoidgemisch mit NaCl	Fällung von Kongorot-Lipoidgemisch mit NaCl
1	0,195	klar	klar	klar
2	0,391	„	„	„
3	0,781	„	„	„
4	1,56	„	„	„
5	3,13	„	leicht getr.	„
6	6,25	„	„ „	„
7	12,5	„	stark trübe	„
8	25	„	„ „	leicht getr.
9	50	„	„ „	„ „
10	100	„	„ „	„ „

Wir haben hier also bei den komplizierter aufgebauten, nur bedingt hydrophoben Farbstoffsolen Verhältnisse, die gewissen Vorgängen physiologischer Art ähneln. An dieser Klasse von Solen wird man also vielleicht künftighin weiter zu arbeiten haben, um den oben erwähnten Antagonismus auf seinen Mechanismus hin unter eindeutigeren Bedingungen als die gewöhnlichen Versuche intra vitam und in vitro geboten hatten, zu untersuchen. Ähnliche Erscheinungen konnten auch beim positiven Nachtblausol beobachtet werden. Es möge hier noch die Tabelle der Trübungswerte von den beim Kongorot ausgeführten Messungen folgen:

Tabelle XI.

Trübungswerte des reinen Kongorotsols, sowie der sensibilisierten bzw. geschützten Sole.

Nr.	Art des Sols	Trübungswert	Nr.	Art des Sols	Trübungswert
1	Rein. Kongorot . . .	300	5	Kongorot-Cholest.-Sol. . . .	75
2	Rein. Lec.-Sol (0,5 proz.)	2,35	6	Rein. Lipoidgemisch .	2,35
3	Lec.-Kongorot-Sol .	1,22	7	Lipoidgemisch-Kongorot-Sol . . .	18,8
4	Rein. Cholest.-Sol (0,5 proz.)	9,38			

Zum Schluß will ich nur kurz noch einige Versuche mit Albumin aus Pferdeblutserum als vorläufige Notiz erwähnen. Auch hier zeigte sich von den früheren Beobachtungen an organischen Solen abweichende Erscheinungen. Das reine Albumin hat auf Kongorot nach *Brossa* eine schützende Wirkung. Das mit Lecithin versetzte Albumin wirkt nun auf Kongorot so ein, daß die entstehenden Solgemische noch elektrolytempfindlicher sind, als die Lecithin-Kongorotgemische. Die Stabi-

lität der Cholesterinfarbstoffsole wird dann in ähnlicher Weise durch Albuminzusatz ebenfalls verringert, so daß der Trübungswert von z. B. Kongorotcholesterinalbuminsol nur 18,8 gegen einen Trübungswert von Kongorotcholesterinsol von 75 Proz. beträgt.

Es wäre nun interessant zu verfolgen, ob sich die von *Handovsky* und *Wagner* (2) zuerst genauer untersuchten Lecithin-Globulinkomplexe in ihrem Verhalten von den Lecithin-Albuminkomplexen in bezug auf Sensibilisierung und daher überhaupt kolloidchemisch unterscheiden. Schließlich wäre es möglich, mit dialysiertem Blutserum direkt zu arbeiten. Wir glauben, auf diese Weise vielleicht dem Verhalten der sogenannten Lipoideiweißverbindungen etwas näher zu kommen, und beabsichtigen, entsprechende Untersuchungen auf diesem Gebiete weiter fortzuführen[1]).

Zusammenfassung.

Man kann mit elektrodialytisch gereinigtem Lecithinsol sowohl positives Fe_2O_3-Sol als auch negatives Mo_2O_5-Sol stark sensibilisieren. Dasselbe findet statt, wenn man mit Cholesterin arbeitet, nur ist die Sensibilisierung nicht ganz so intensiv wie beim Lecithin.

Bei Lecithinsterin- und Lecithinserumalbumingemischen behält das Lecithin weitgehend seine sensibilisierenden Eigenschaften bei. Lecithinhaltige Kongorotsole sind gegen Elektrolyt empfindlicher als die Ausgangssole. Cholesterinhaltige Kongorotsole dagegen weniger empfindlich als die Ausgangssole. Bei diesen Farbstoffsolen hat man also einen gewissen Antagonismus von Lecithin zu Cholesterin hinsichtlich der Elektrolytflockung.

Herrn Professor Dr. *Herbert Freundlich* möchte ich für sein dauerndes Interesse an dieser Arbeit sowie für mannigfache Ratschläge meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Literatur.

1) *Porges* und *Neubauer*, diese Zeitschr. **7**, 152, 1907. — 2) *Handovsky* und *Wagner*, ebendaselbst **31**, 32, 1912. — 3) *Neuschloss*, Pflügers Arch. **181**, 17, 1920; **187**, 136, 1921. — 4) *Brinkman* und *van Dam*, diese Zeitschr. **108**, 35, 1920. — 5) *Brossa* und *Freundlich*, Zeitschr. f. physik. Chem. **89**, 306, 1914. — 6) *Reitstötter*, Österr. Chem.-Ztg. **5**, 123, 1922. — 7) *Ruppel*, *Ornstein*, *Carl* und *Lasch*, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **97**, 188, 1922. — 8) *Bang*, Mikromethoden zur Blutuntersuchung. — 9) *Brossa*, Kolloid-Zeitschr. **32**, 107, 1923. — 10) *Keeser*, diese Zeitschr. **154**, 321, 1924.

---

[1]) Bei Einreichung dieser Arbeit erschien von *E. Keeser*, diese Zeitschr. **154**, 321, 1924. Studien über Cholesterin und seine Ester. Unsere Befunde stimmen, soweit sie sich berühren, d. h. die Einwirkung der Lipoide auf anorganische Sole, durchaus überein.

Untersuchungen an elektrolytfreien wasserlöslichen Proteinen.

IV. Mitteilung:

Säureproteinverbindungen. I.

Von

Fernando Modern (Buenos-Aires) und Wo. Pauli.

(Aus dem Laboratorium für physikalisch-chemische Biologie der Universität Wien.)

(Eingegangen am 19. Januar 1925.)

Mit 13 Abbildungen im Text.

Die Herstellung reinster, elektrolytfreier Proteine legte es nahe, die früheren Untersuchungen über die Beziehungen von Eiweißkörpern zu Säuren[1]) durch neue zu ergänzen, die sich zunächst auf die Einwirkung sehr niedriger Säurekonzentrationen erstrecken sollten. Eine nähere Betrachtung der vorliegenden Arbeiten zeigt nämlich, daß auf diesem Gebiet das Beobachtungsmaterial außerordentlich lückenhaft ist und daß insbesondere in bezug auf das Verhalten in der Gegend isoelektrischer Reaktion entscheidende, theoretische Annahmen gemacht wurden, die einer sicheren experimentellen Grundlage überhaupt entbehren. Dadurch ist es zu einem einseitigen Überwuchern der theoretischen Behandlung in wichtigen Fragen der physikalischen Chemie der Proteine gekommen, die wohl zunächst manche wertvollen Fortschritte gebracht hat, aber schließlich die Einsicht in die wirklichen Zusammenhänge hemmen muß. In dieser und den folgenden Arbeiten möge deshalb wiederum in erster Linie die experimentelle Analyse zum Wort kommen.

I. Herstellung der Eiweißlösungen und Methodik.

Glutin. Gelatine „Goldmarke“ wurde zunächst durch viele Wochen in Mullsäcken unter Chloroform- und Toluolzusatz (als Boden- und Oberflächenschicht) gegen destilliertes Wasser dialysiert, darauf vorsichtig eingeschmolzen, filtriert und durch 5 Tage erst bei einer Spannung von 220 Volt, dann 440 Volt elektrodialysiert. Die Leitfähigkeit betrug dann $K = 1{,}41 \cdot 10^{-5}$

---

[1]) Literatur vgl. *Pauli*, Kolloidchemie der Eiweißkörper. Dresden, Steinkopff, 1920.

bei einem Trockengehalt von 4,604 Proz. Nach einigen Monaten wurde das Glutin mit dem gleichen Volumen Wasser zu der Stammlösung von 2,409 Proz. verdünnt, deren Leitfähigkeit dann $2,1 \cdot 10^{-5}$ betrug.

Seralbumin. Frisches Pferdeserum wurde zuerst unter Toluol in einem Faltendialysator durch 2 Wochen gegen destilliertes Wasser dialysiert. Hierauf wurde es der Elektrodialyse (ED) bei 220 Volt unterzogen. Nach einer Durchströmung von 2 Tagen wurden die drei gebildeten Schichten auf ihren Globulingehalt untersucht. Die mittlere Schicht hatte den geringsten Globulingehalt und gab bei Halbsättigung mit Ammonsulfat fast keine Trübung. Sie wurde daher allein herauspipettiert und bei 440 Volt weiter elektrodialysiert. Die sich bildende obere wasserartige Schicht wurde entfernt, durch destilliertes Wasser ersetzt und unter Zugabe einiger Tropfen K_2SO_4-Lösung die Durchströmung fortgesetzt. Diese Prozedur wurde so oft (meist drei- bis viermal) wiederholt, bis auf Halbsättigung mit Ammonsulfat keine Trübung mehr eintrat. Die Leitfähigkeit der schließlich verbleibenden reinen Albuminlösung von 1,3 Proz. betrug $9,42 \cdot 10^{-6}$.

Ovalbumin. Das vom Dotter abgetrennte Klar von 20 Eiern wurde zu Schaum geschlagen, unter Toluolzusatz zusammenfallen gelassen, zu gleichen Teilen mit destilliertem Wasser versetzt und filtriert. Die Flüssigkeit hatte ein $K = 5 \cdot 10^{-3}$ r. O. Sie wurde dann im Faltendialysator bei viermal täglichem Wasserwechsel 7 Tage bis zur Leitfähigkeit $4,58 \cdot 10^{-4}$ r. O. dialysiert. Diese Lösung wurde dann in einem großen Elektrodialysierapparat (Mittelzelle 1300 ccm, Kohlenanode, Silbernetzkathode) bei 220 Volt und täglich viermaligem Wasserwechsel durchströmt.

Dialysendauer	2 Tage	3 Tage	4 Tage
Obere Schicht	$K = 4,35 \cdot 10^{-5}$	$3,47 \cdot 10^{-5}$	$2,84 \cdot 10^{-5}$
Untere Schicht	$K = 2,13 \cdot 10^{-5}$	$2,06 \cdot 10^{-5}$	$1,60 \cdot 10^{-5}$

Die Ammonsulfatreaktion zeigte auch noch am vierten Tage in der unteren Schicht die Anwesenheit kleiner Globulinmengen an. Die Elektrodialyse der Lösung, welche nach Durchmischen der beiden Schichten eine Leitfähigkeit von $2,23 \cdot 10^{-5}$ aufwies, wurde jetzt in einem kleinen *Pauli*schen Apparat mit Pt-Netzelektroden vorgenommen, nachdem die Lösung mit etwas K_2SO_4 zur Endkonzentration n/100 versetzt worden war. Die Spannung wurde allmählich auf 220 Volt erhöht.

Dialysendauer	2 Tage	3 Tage
Obere Schicht	$K = 1,93 \cdot 10^{-4}$	$1,72 \cdot 10^{-5}$
Untere Schicht	$K = 2,49 \cdot 10^{-5}$	$1,61 \cdot 10^{-5}$

Weil in der Lösung noch am vierten Tage Spuren von Globulin vorhanden waren, wurde sie abermals in der gleichen Weise auf n/100 K_2SO_4-Gehalt gebracht und die Elektrodialyse durch 2 Tage fortgesetzt. Jetzt wurde die Spannung auf 440 Volt erhöht und noch 5 Tage lang durchströmt. Die gemischte Lösung gab ein $K = 1,625 \cdot 10^{-5}$ r. O., bei einem Trockenrückstand von 3,14 Proz.

Die Beziehungen der Proteine zu starken Säuren lassen sich am leichtesten mittels HCl studieren, indem neben der H-Ionenaktivität die der Cl-Ionen potentiometrisch gemessen wird. In dieser Arbeit

wurde das Konzentrationsgebiet der Eiweißkörper 1 bis 1,56 Proz. und der zugesetzten Säure 1.10^{-4} bis 1.10^{-2} n HCl (Endkonzentrationen) untersucht. Es werden also hohe Anforderungen an die Genauigkeit der Messungen gestellt. Die seit den grundlegenden Versuchen *S. P. L. Sörensens* hochentwickelte, potentiometrische H-Messung wird ja durch die Anwesenheit reiner Eiweißkörper nicht gestört. Wenn aber die Analyse der Säureeiweißbeziehungen für so niedrigen Säuregehalt durchgeführt werden soll, dann muß auch unter Umständen auf die H-Konzentration der reinen Eiweißlösungen Rücksicht genommen werden.

Die *H-Ionen*messungen wurden mit der am Institut für subtiles Arbeiten bewährten Rotierelektrode[1]) unter ausgiebiger Durchströmung mit reinstem Elektrolytwasserstoff durchgeführt. Unsere Eiweißkörper erwiesen sich durch das Hydrolysegleichgewicht in ihren Lösungen genügend gepuffert, vielleicht wird auch die H-Sättigung darin begünstigt. Jedenfalls gaben sie auch ohne Zusatz trotz der geringen Leitfähigkeit eine ganz ausgezeichnete Konstanz und Reproduzierbarkeit der Werte.

Die *Chlorionenaktivität* wurde mit nicht zu kleinen Kalomelelektroden bestimmt, wobei die Flüssigkeit nach Schütteln mit Hg_2Cl_2 dreimal gewechselt und dann 24 Stunden verschlossen gehalten wurde. Stets wurde dieselbe Lösung mit drei Elektroden zugleich gemessen und alle drei Werte mußten auf ½ Millivolt übereinstimmen, nur bei 1.10^{-4} n HCl ergab sich eine Schwankung um $\pm$ 1,5 Millivolt. Für die genaue Reproduzierbarkeit der Werte kommt es also in erster Linie auf sorgfältige Herstellung der betreffenden Lösung an. Konstanz der Ablesung war nach 2 Stunden erreicht, die Ablesung wurde nach 24 Stunden wiederholt. Die Bezugselektrode war mit n KCl gefüllt. Als Zwischenflüssigkeit diente hier stets isophoretische ($NH_4NO_3 + NaNO_3$)-Lösung.

Die *elektrische Leitfähigkeit* wurde mit allen Kautelen bei 25° gemessen, mindestens 2 Stunden nach Herstellung der Lösung zum erstenmal.

Es haben zuerst *Pauli* mit *Th. Oryng*[2]) anläßlich der Messungen der Chlorionenaktivität in Eiweißlösungen bei Zusatz von KCl gezeigt, daß das Seralbumin und Glutin, in der damals verfügbaren Reinheit, mit Kalomel allein eine nicht unbeträchtliche Erhöhung der potentiometrisch bestimmten Cl-Ionen gegenüber der Kalomellöslichkeit in Wasser bewirkt, auf welche Rücksicht genommen werden muß. Ferner wurde damals gefunden, daß die Reaktion des Eiweißes mit HgCl durch Zusatz von H_2SO_4 gehemmt und die Cl-Aktivität bis zur Grenze der Kalomellöslichkeit in Wasser herabgedrückt wird.

Für die in unseren Versuchen verwendeten sehr geringen Säurezusätze und die benutzten reinsten Eiweißkörper war demnach ohne genaue Kenntnis der Hg_2Cl_2-Eiweißbeziehungen und der nötigen Korrekturen an eine Verwertung der Resultate nicht zu denken. Zur

---

[1]) *Pauli* und *J. Matula*, Kolloid-Zeitschr. **21**, 49, 1917. Die Apparate sind zu beziehen durch F. Köhler, Leipzig.

[2]) Diese Zeitschr. **76**, 373, 1915.

Ermittlung der erforderlichen Daten wurden folgende Wege eingeschlagen.

1. Genaue potentiometrische Bestimmung der Cl-Aktivität in reinsten Eiweißlösungen verglichen mit Wasser.

2. Untersuchung der Cl-Aktivität bei Zusatz von H_2SO_4 zum Eiweiß, in der gleichen Konzentration wie später HCl, unter der experimentell gerechtfertigten Annahme, daß die H-Ionenbindung in beiden Fällen übereinstimmt.

Das geht z. B. aus dem folgenden Versuch am Ovalbumin, insbesondere der übereinstimmenden EMK hervor.

Tabelle I.

Ovalbumin 1,57 Proz.

n Säure	Millivolt		$C_H(H_2SO_4)$	$C_H(HCl)$
	HCl	H_2SO_4		
$1 \cdot 10^{-4}$	559	560	$1{,}81 \cdot 10^{-5}$	$1{,}74 \cdot 10^{-5}$
$3 \cdot 10^{-4}$	555,5	554	$2{,}08 \cdot 10^{-5}$	$2{,}21 \cdot 10^{-5}$
$5 \cdot 10^{-4}$	550,5	550	$2{,}64 \cdot 10^{-5}$	$2{,}59 \cdot 10^{-5}$

In der H-Aufnahme muß jedoch die Ursache für die Herausdrängung von Hg aus der Kalomeleiweißverbindung unter Absinken der Cl-Aktivität gesucht werden. So können die zur Korrektur für den Versuch mit HCl nötigen Werte der von $[Hg \cdot Alb]^+/Cl^-$ stammenden Cl-Ionen einer analogen Versuchsreihe mit H_2SO_4 entnommen werden.

3. Die unter Einwirkung von HgCl auftretenden Änderungen werden schließlich in einer Verschiedenheit der Leitfähigkeitswerte zutage treten, die aus zwei Parallelreihen von Versuchen — mit und ohne Kalomelbehandlung — abgeleitet werden kann.

Da sich gezeigt hat, daß die einzelnen Eiweißkörper beträchtliche individuelle Verschiedenheiten in den Beziehungen zum Merkurchlorid zeigen können, mußten sämtliche Verfahren bei jedem der Eiweißkörper angewendet werden.

II. Glutin.

Unser Glutin wurde in der Endkonzentration 1,2 Proz. untersucht. Es gab, mit Kalomel ins Gleichgewicht gebracht, potentiometrisch $C_{Cl} = 1{,}27 \cdot 10^{-4}$ n und hatte ein $p_H = 5{,}1033$ entsprechend $7{,}88 \cdot 10^{-6}$ n H-Ionen. Mit steigenden Zusätzen von H_2SO_4 sank die Cl-Aktivität, um bei $1 \cdot 10^{-2}$ n H_2SO_4 praktisch den Wasserwert unseres Kalomels zu erreichen. Die Tabelle II und Abb. 1 läßt einen linearen Abfall erkennen. Ihr können leicht die bei HCl-Zusatz zum Glutin als Ergebnis der Merkurochloridanwesenheit auftretenden Cl-Ionen entnommen werden.

Tabelle II. (Abb. 1.)

Cl-Aktivität in Glutin + H_2SO_4.

n H_2SO_4	Millivolt	p_{Cl}	c_{Cl}
0,0000	509,8	3,8950	$1,27 . 10^{-4}$
0,0001	509,8	3,8950	$1,27 . 10^{-4}$
0,0003	515,3	3,9897	$1,02 . 10^{-4}$
0,0005	515,3	3,9897	$1,02 . 10^{-4}$
0,001	517,8	4,0327	$9,27 . 10^{-5}$
0,01	577,3	5,0568	$8,77 . 10^{-6}$

Man kann nun auf Grund folgender Betrachtung zu einer gewissen Schätzung des Molekulargewichts von Glutin gelangen, wenn man annimmt, daß die Behandlung mit Kalomel alle nicht leitenden Molekülarten in ionische übergeführt hat. Zunächst sind hier $1,27 . 10^{-4}$n als [Hg-Glutin] Cl^- und $7,88 . 10^{-6}$n als [Glutin]H^+ vorhanden. Weist man diesen Glutinionen die mittlere Äquivalentbeweglichkeit 50 r. O. zu, so gibt dies eine Gesamtleitfähigkeit von $1,9 . 10^{-5}$, während das reine, mit Kalomel geschüttelte Glutin $2,778 . 10^{-5}$ Leitfähigkeit aufweist. Es verbleibt also noch eine Restleitfähigkeit von $8,78 . 10^{-6}$, die weder von H noch Cl ionisierenden Glutinanteilen stammt. Wir schreiben diese Leitfähigkeit (s. unten) nach den bisherigen Erfahrungen einer bimolekularen Ionisation — Bildung positiver und negativer Proteinionen — zu, wobei es offen bleiben muß, ob diese von einer Reaktion mit der Luftkohlensäure oder einer Bildung von Hg . Glutin/Glutin . Cl herrührt. Aus dieser Restleitfähigkeit würden sich noch $1,76 . 10^{-4}$n Glutinionen ergeben. Die Summe aller verschiedenen Glutinionen gäbe $3,1 . 10^{-4}$ n für eine Glutinlösung von 12 g im Liter, was einem Molekulargewicht von 39700 (rund 40000) entspricht, einem nicht unplausiblen und vielleicht wegen zu geringer Wasserkorrektur noch etwas zu kleinem Werte.

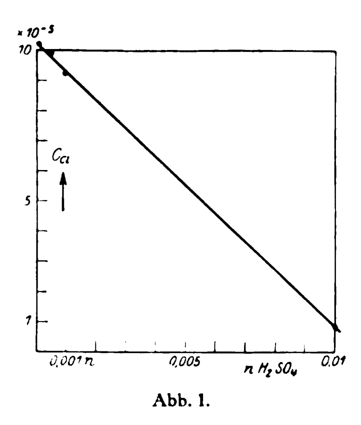


Abb. 1.

Die beschriebene Erscheinung der leichten Verdrängbarkeit des Merkurochlorids aus dem Glutin mit fortschreitendem Säurezusatz muß auch eine fortschreitende Verringerung der Leitfähigkeitsdifferenz bewirken, wenn man mit zunehmender Säure versetztes Glutin mit Kalomel behandelt und mit unbehandeltem vergleicht. Ein Versuch dieser Art kann mit HCl ausgeführt werden, wobei zufolge der Ionisationszurückdrängung durch das gemeinsame Cl-Ion die Kalomellöslichkeit im Wasser praktisch außer Betracht fällt.

Die Tabelle III gibt die entsprechenden Daten wieder. Da in $(K_2 - K_1)$ sich die Leitfähigkeit des Wassers heraushebt, sind die Werte K_1 und K_2 ohne Abzug von K_{H_2O} genommen. Der Versuch zeigt die erwartete Abnahme von $K_2 - K_1$ bis zu einer konstanten Größe.

Tabelle III.
Glutin + HCl, mit und ohne HgCl.

n HCl	K_1	$K_2 = (K + Cl_2Hg_2)$	$K_2 - K_1$
0,0000	1,74 . 10−5	2,778 . 10−5	1,04 . 10−5
0,0001	2,77 . 10−5	3,555 . 10−5	7,85 . 10−6
0,0003	4,36 . 10−5	4,927 . 10−5	5,67 . 10−6
0,0005	—	6,165 . 10−5	—
0,001	9,7 . 10−5	1,01 . 10−4	4,0 . 10−6

Es wurde nunmehr die H-Ionenaktivität bei einem von $1 . 10^{-4}$ bis $1 . 10^{-2}$ n steigenden HCl-Zusatz gemessen und daraus, unter Berücksichtigung der in der reinen Glutinlösung bestimmten $C_H = 7,88 . 10^{-6}$ n, das gebundene H berechnet. Diese Berechnungsweise setzt nur voraus, daß die zugesetzte Säure keine merkliche Zurückdrängung der Ionisation der dem Glutin entstammenden H-Ionen bewirkt, was auch bei der, wie sich zeigte, in diesem Bereich praktisch vollständigen Säurebindung an das Glutin als zutreffend angesehen werden kann.

Tabelle IV. (Abb. 2 u. 3.)
Glutin + HCl, p_H.

n HCl	EMK (Millivolt)	p_H	C_H	C'_H (gebunden)
0,0000	580,0	5,1033	7,88 . 10−6	—
0,0001	575,5	5,0258	9,42 . 10−6	9,85 . 10−5
0,0003	572,5	4,9742	1,06 . 10−5	2,98 . 10−4
0,0005	566,7	4,8744	1,34 . 10−5	4,946 . 10−4
0,001	557,0	4,7074	1,96 . 10−5	9,89 . 10−4
0,005	508,5	3,8727	1,34 . 10−4	4,874 . 10−3
0,01	460,0	3,0379	9,16 . 10−4	9,10 . 10−3

In der folgenden Versuchsreihe sind die potentiometrisch bestimmten Cl-Aktivitäten wiedergegeben und daraus sind, unter Einsetzung der mittels H_2SO_4 gewonnenen Korrektur (Tabelle II), die aus der Säure weggebundenen Cl-Ionen abgeleitet.

Tabelle V. (Abb. 2 u. 3.)
Glutin + HCl, p_{Cl}.

n HCl	EMK (Millivolt)	p_{Cl}	C_{Cl}	C_{Cl} (korrig.)	C'_{Cl} gebunden
0,0000	509,8	3,8950	1,27 . 10−4	—	—
0,0001	507,8	3,8606	1,38 . 10−4	1,1 . 10−5	8,9 . 10−5
0,0003	493,3	3,6110	2,45 . 10−4	1,43 . 10−4	1,57 . 10−4
0,0005	478,8	3,3614	4,35 . 10−4	3,03 . 10−4	1,97 . 10−4
0,001	464,3	3,1119	7,73 . 10−4	6,83 . 10−4	3,2 . 10−4
0,005	426,5	2,4613	3,46 . 10−3	3,41 . 10−3	1,6 . 10−3
0,01	411,8	2,2082	6,19 . 10−3	6,18 . 10−3	3,8 . 10−3

Der Vergleich der zwei Tabellen (IV und V) zeigt, daß in den untersuchten niederen S-Konzentrationen die H-Ionen fast vollständig vom Glutin gebunden werden, während die Cl-Bindung, anfangs allerdings nur sehr wenig, dann aber stark zunehmend, gegenüber der H-Aufnahme zurückbleibt. Das geht sehr deutlich aus den zugehörigen Abb. 2 und 3 hervor, deren gewählte Einheiten um eine Zehnerpotenz auseinanderliegen.

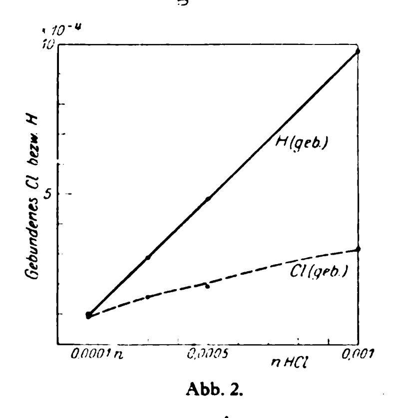


Abb. 2.

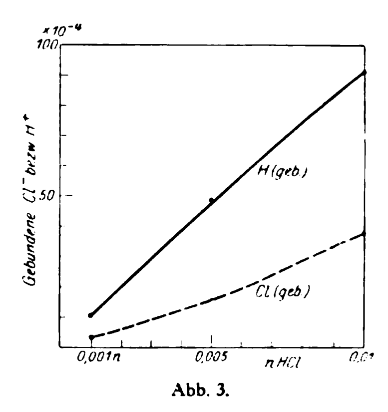


Abb. 3.

Bezeichnet C'_H das gebundene H und zugleich diejenige Säuremenge, welche mit dem Glutin reagiert hat, C'_{Cl} entsprechend das gebundene Cl, dann wäre $\frac{C'_H - C'_{Cl}}{C'_H}$ der scheinbare Dissoziationsgrad α des entstandenen Säureglutins. Wie die Tabelle VI erkennen läßt, ist dieses α anfangs klein — um 9,6 Proz. —, dann wächst α auf fast 68 Proz., um allmählich etwas (auf 57 Proz.) abzunehmen.

Tabelle VI.
Glutin + HCl, α-Werte.

n HCl	$1 . 10^{-4}$	$3 . 10^{-4}$	$5 . 10^{-4}$	$1 . 10^{-3}$	$5 . 10^{-3}$	$1 . 10^{-2}$
α Proz.	9,64	47,3	60,17	67,64	67,17	57,42

Man kann nun die gefundenen Daten verwenden, um einen gewissen Einblick in die Konstitution der gebildeten Säureglutinverbindung zu erlangen.

Wir können zunächst den freien H-Ionen, welche nach Abzug der vom Glutin allein herrührenden ($7,88 . 10^{-6}$ n) verbleiben, die gleiche Anzahl von Cl-Ionen zuordnen und daraus mit Hilfe der Äquivalentbeweglichkeiten (25° C) $u + v = 425$ die auf die aktive Salzsäure entfallende Leitfähigkeit K_{HCl} rechnen. Subtrahiert man diesen Wert von der gefundenen Gesamtleitfähigkeit K, dann erhält man eine Restleitfähigkeit $(K - K_{HCl})$, welche auf vorhandene ionisierte Eiweißverbindungen entfallen muß.

Diese Restleitfähigkeit setzt sich zusammen:

1. Aus dem unter H-Dissoziation ionisierenden Glutin — nach dem Schema $[RNH_2COO]^-.H^+$-, welches durch das in reinem Glutin meßbare [H] bestimmt ist. Schreibt man dem Eiweißion die Äquivalentbeweglichkeit $v = 50$ r. O. für 25° C zu, so läßt sich die Leitfähigkeit des als *Säure vorhandenen Glutins* mit $3{,}15 . 10^{-6}$ r. O. berechnen.

2. Aus dem als Salz nach dem Schema $[RCOOH.NH_3]^+.Cl^-$ ionisierenden Glutinchlorid. Seine Normalität ist durch die nach Abzug des HCl verbleibenden Chlorionen $(C_{Cl} - C_{HCl})$ bestimmt. Auch diesen positiven Eiweißionen können wir, ohne großen Fehler, die mittlere [1]) Beweglichkeit $u = 50$ r. O. zuweisen und daraus die auf das *aktive Glutinchlorid* entfallende Leitfähigkeit ableiten.

3. Summiert man 1 und 2 und bleibt nach Abzug von der Restleitfähigkeit noch eine merkliche Leitfähigkeit übrig, so kann dieselbe nur einer inneren (*bimolekularen*) *Ionisation* im Eiweiß entstammen, die sowohl positive, als auch negative Eiweißionen liefern muß, da keine Cl- oder H-Ionen mehr zur Verfügung stehen.

In der Tabelle VII sind alle diese Berechnungen durchgeführt.

Tabelle VII. Glutin + HCl, Verteilung der Leitfähigkeit. (Abb. 4 u. 5.)

n HCl	$\varkappa = \varkappa' - \varkappa_{H_2O}$	$\varkappa_{HCl}$	$\varkappa - \varkappa_{HCl}$	$\varkappa_{Gl.Cl}$	$\varkappa_{A^+.A^-}$
0,0000	$1{,}17 . 10^{-5}$	—	—	—	—
0,0001	$1{,}98 . 10^{-5}$	$6{,}5 . 10^{-7}$	$1{,}92 . 10^{-5}$	$1{,}18 . 10^{-6}$	$1{,}5 . 10^{-5}$
0,0003	$3{,}87 . 10^{-5}$	$1{,}15 . 10^{-6}$	$3{,}75 . 10^{-5}$	$1{,}75 . 10^{-5}$	$1{,}7 . 10^{-5}$
0,0005	$5{,}20 . 10^{-5}$	$2{,}34 . 10^{-6}$	$4{,}96 . 10^{-5}$	$3{,}72 . 10^{-5}$	$9{,}4 . 10^{-6}$
0,001	$9{,}32 . 10^{-5}$	$8{,}32 . 10^{-6}$	$8{,}488 . 10^{-5}$	$8{,}287 . 10^{-5}$	—
0,005	$4{,}67 . 10^{-4}$	$5{,}695 . 10^{-5}$	$4{,}10 . 10^{-4}$	$4{,}08 . 10^{-4}$	—
0,01	$1{,}051 . 10^{-3}$	$3{,}89 . 10^{-4}$	$6{,}61 . 10^{-4}$	$6{,}59 . 10^{-4}$	—

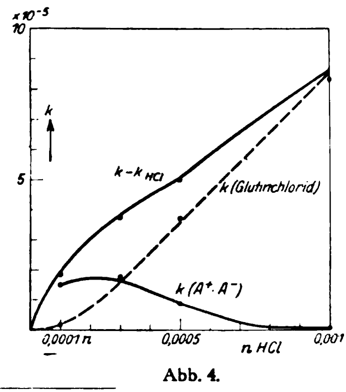


Abb. 4.

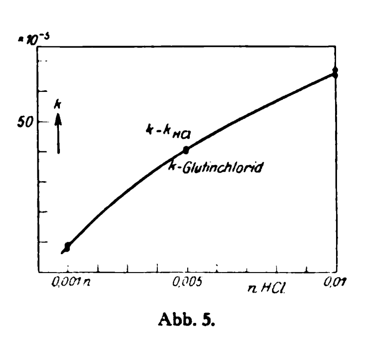


Abb. 5.

[1]) Auf den näherungsweisen Charakter dieser Berechnungsweise sei ausdrücklich hingewiesen, denn der *u*-Wert kann hier, allerdings nur nach abwärts, nicht unbeträchtlich schwanken. Die Schlußfolgerungen sind jedoch so gezogen, daß sie für einen kleineren *u*-Wert a fortiori gelten (s. unten). Vgl. auch die folgende Mitteilung von ***Pauli*** mit ***J. Frisch***.

Noch anschaulicher als aus den Zahlen werden die Ergebnisse an Hand der zugehörigen Abb. 4 und 5. Betrachten wir zunächst den einfacheren Fall (Abb. 5), den Konzentrationsbereich $1 . 10^{-3}$n bis $1 . 10^{-2}$n HCl. Hier zeigt sich nämlich, daß fast die gesamte Restleitfähigkeit (nach Abzug des K_{HCl}) von Glutinchlorid getragen wird. Die zwei auf verschiedenem Wege erhaltenen Kurven $K - K_{HCl}$ und $K_{Cl\,Alb.}$ fallen genau zusammen. Aus den scheinbaren Dissoziationsgraden α wissen wir, daß trotz der relativ hohen Verdünnungen in den betrachteten Konzentrationen der inaktive Cl-Anteil zwischen 35 und 43 Proz. beträgt. Diese inaktive aufgenommene HCl wird nach den gegebenen Berechnungen hier sicher nicht erheblich zum Aufbau besonderer ionisierter Proteinanteile verwendet.

Etwas abweichend von diesem Bilde erscheinen zunächst die Verhältnisse im niedrigsten Konzentrationsbereich, unter $1 . 10^{-3}$n HCl (Abb. 4). Hier findet sich noch ein Plus in der Restleitfähigkeit nach Abzug von $K_{Alb.H}$ und $K_{Cl\,Alb.}$, das im Zusammenhang mit früheren Untersuchungen auf die Ionen eines „Proteinproteinats“, auf eine bimolekulare Ionisation des Eiweißes zurückgeführt werden kann. Insbesondere war eine Reaktion mit H_2CO_3 als typisch an den reinsten Eiweißkörpern nachgewiesen worden, welche nach der Auffassung *Paulis* am einfachsten aus der Wechselwirkung je eines Zwitterions $[{}^+NH_3.RCOO^-]$ mit den Ionen H^+ und HCO_3^- verständlich wird. Die Zwitterionen, deren große Bedeutung in der Konstitution der Aminosäuren von *N. Bjerrum* nachgewiesen wurde, neigen, wie Dipole überhaupt, stark zur Assoziation, und unter den Assoziaten werden im allgemeinen Bimoleküle am häufigsten zu erwarten sein. Die Reaktion mit H^+ und HCO_3^- würde dann die doppelten Zwitterionen (*Pauli* und *M. Schön*[1]) wenigstens zunächst in die Ionen $NH_3HCO_3.RCOO^-$ und $COOH.RNH_3^+$ überführen, die sich sekundär in eine andere Form umlagern könnten. Ein reines Eiweiß besitzt also beim Stehen an der Luft eine elektrische Leitfähigkeit, die sich aus zwei Summanden, der des Säureanteils + H-Ionen und der durch bimolekulare Ionisation gebildeten Eiweißionen, zusammensetzt. Die letzteren tragen dabei den Hauptanteil der Leitfähigkeit. Mit diesen beiden Summanden von K tritt auch das Eiweiß bei den niedrigsten Säurezusätzen von HCl in die Reaktion ein. Der auf die CO_2-Wirkung zurückführbare Leitfähigkeitsanteil des Eiweißes bewirkt nun die anscheinenden Anomalien der Anfangsteile der Kurven in Abb. 5. Kurve $k(A^+ . A^-)$ stellt denjenigen Leitfähigkeitsrest dar, welcher auf die durch H_2CO_3 hervorgerufene Eiweißionenbildung zurückgeht und infolge der zugesetzten HCl rasch abnimmt, um bei etwas über

[1]) Diese Zeitschr. **153**, 253, 1924.

$7 . 10^{-4}$ n HCl zu verschwinden. Nimmt man auf diesen begleitenden Vorgang Bedacht, dann bleibt auch in den niedrigsten Säurekonzentrationen als Reaktion mit der HCl *im wesentlichen die Bildung von Glutinchlorid* und der *Eintritt eines nicht unbeträchtlichen Teiles der HCl unter Inaktivierung* übrig.

III. Seralbumin.

Unser Seralbumin wurde in 1 proz. Endkonzentration verwendet und gab im Gleichgewicht mit Mercurochlorid $C_{Cl} = 1,82 . 10^{-4}$ n, also erheblich mehr als das 1,2proz. Glutin. Dagegen betrug das $C_H = 3,3 . 10^{-6}$ n, also weniger als die Hälfte des Glutinwerts. Die durch das erhöhte C_{Cl} angezeigte Verbindung von Hg mit dem Albumin wird durch Säurezugabe praktisch vollständig zurückgebildet und die Cl-Aktivität nahe zu der im reinen Wasser zurückgebracht. Das geht aus der folgenden Versuchsreihe mit Zusatz von H_2SO_4 hervor (Tabelle VIII und Abb. 6).

Tabelle VIII. (Abb. 6.)
1 proz. Seralbumin + H_2SO_4, C_{Cl}.

n H_2SO_4	EMK (Millivolt)	p_{Cl}	C_{Cl}
0,0000	500,8	3,7401	$1,82 . 10^{-4}$
0,0001	500,8	3,7401	$1,82 . 10^{-4}$
0,0003	502,8	3,7745	$1,68 . 10^{-4}$
0,001	504,8	3,8089	$1,55 . 10^{-4}$
0,005	527,8	4,2048	$6,24 . 10^{-5}$

Der gleiche Vorgang läßt sich bei HCl-Zusatz aus dem Gange der Leitfähigkeitsdifferenz ΔK mit und ohne Kalomelbehandlung entnehmen. Das zeigt die Tabelle IX, die keiner weiteren Erläuterung bedarf.

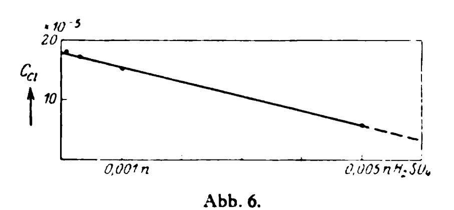


Abb. 6.

Tabelle IX. 1 proz. Seralbumin + HCl, *K*.

HCl	K_1	K (mit Hg_2Cl_2)	ΔK
0,0000	$6,435 . 10^{-6}$	$1,68 . 10^{-5}$	$1,04 . 10^{-5}$
0,0001	$1,56 . 10^{-5}$	$2,655 . 10^{-5}$	$1,09 . 10^{-5}$
0,0003	$2,97 . 10^{-5}$	$3,69 . 10^{-5}$	$7,2 . 10^{-6}$
0,0005	$4,23 . 10^{-5}$	$5,13 . 10^{-5}$	$9,0 . 10^{-6}$
0,001	$8,08 . 10^{-5}$	$8,73 . 10^{-5}$	$6,5 . 10^{-6}$

Es wurden nun in derselben Weise wie beim Glutin die Resultate der potentiometrischen H- und Cl-Bestimmung korrigiert und daraus das gebundene H und Cl errechnet. Die Ergebnisse sind in den Tabellen X und XI wiedergegeben.

Tabelle X. (Abb. 7 u. 8.)

1proz. Seralbumin + HCl, p_H.

n HCl	Millivolt	p_H	C_H	H (gebunden)
0,0000	602,0	5,4820	3,30 . 10−6	—
0,0001	586,0	5,2065	6,22 . 10−6	9,7 . 10−5
0,0003	581,5	5,1291	7,43 . 10−6	2,96 . 10−4
0,0005	570,0	4,9312	1,17 . 10−5	4,92 . 10−4
0,001	554,0	4,6557	2,21 . 10−5	9,78 . 10−4
0,003	519,0	4,0533	8,84 . 10−5	2,91 . 10−3
0,005	501,0	3,7435	1,81 . 10−4	4,816 . 10−3
0,01	466,5	3,1497	7,08 . 10−4	9,24 . 10−3

Tabelle XI. (Abb. 7 u. 8.)

1proz. Seralbumin + HCl, p_{Cl}.

n HCl	Millivolt	p_{Cl}	C_{Cl}	C_{Cl} (korrig.)	C'_{Cl} (gebunden)
0,0000	500,8	3,7401	1,82 . 10−4	—	—
0,0001	492,8	3,6024	2,50 . 10−4	6,8 . 10−5	3,2 . 10−5
0,0003	484,8	3,4647	3,43 . 10−4	1,75 . 10−4	1,25 . 10−4
0,0005	481,8	3,4131	3,80 . 10−4	2,10 . 10−4	3,17 . 10−4
0,001	480,8	3,3959	4,02 . 10−4	2,47 . 10−4	7,53 . 10−4
0,003	460,8	3,0516	8,88 . 10−4	7,88 . 10−4	2,21 . 10−3
0,005	437,8	2,6557	2,21 . 10−3	2,15 . 10−3	2,85 . 10−3
0,01	416,8	2,2943	5,08 . 10−3	5,08 . 10−3	4,92 . 10−3

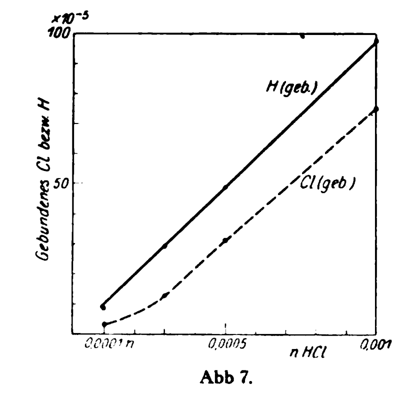


Abb 7.

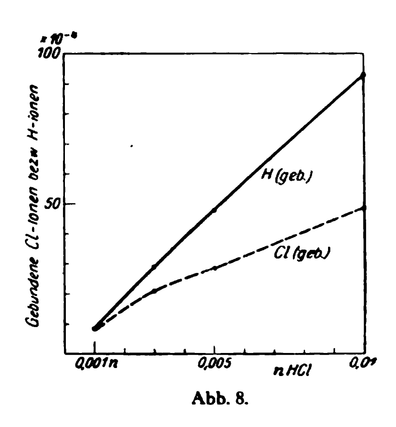


Abb. 8.

Der Gang der H- und Cl-Aufnahme geht sehr deutlich aus den entsprechenden Abb. 7 und 8 hervor, die, bei nahezu linearem Verlauf der H-Bindung, einen S-förmigen Verlauf der Cl-Bindung anzeigen.

Man kann nun, wie bei Glutin ausgeführt wurde, mit Hilfe der Leitfähigkeitswerte die gefundenen Daten zur Erforschung der Verteilung der HCl auf das Albumin verwenden.

Die nach Abzug des freien HCl-Anteils verbleibende, von den ionisierten Eiweißverbindungen getragene Leitfähigkeit läßt sich auf

drei Fraktionen aufteilen: 1. auf das $Alb.^-/H^+$, 2. auf das $Alb.^+/Cl^-$ und 3. auf durch bimolekulare Ionisation gebildetes $Cl Alb.^-/Alb. H^+$ (abgekürzt $A^+.A^-$).

Das als Säure ionisierende Albumin würde aus $C_H = 3{,}3 . 10^{-6}$ und unter der Annahme einer Äquivalentbeweglichkeit $u = 50$ r. O. (bei 25° C) ein $K = 1{,}32 . 10^{-6}$ ergeben. Die aus $(C_{Cl} - C_{HCl})$ gewonnene Normalität des Albuminchlorids würde mit $u = 50$, $v = 75{,}5$ den Wert $K_{Alb.Cl}$ liefern. Der Rest entfiele auf $K_{A^+A^-}$ als Ergebnis der bimolekularen Ionisation. Die Tabelle XII (Abb. 9 und 10) zeigt dies an.

Tabelle XII. (Abb. 9 u. 10.)

1 proz. Seralbumin, $K_{Alb.Cl}$, $K_{A^+A^-}$.

n HCl	$K - K_{H_2O} = K_1$	K_{HCl}	$(K_1 - K_{HCl})$	$K_{Alb.^+Cl^-}$	$K_{A^+A^-}$
0,0000	$1{,}11 . 10^{-5}$	—	—	—	—
0,0001	$2{,}39 . 10^{-5}$	$2{,}64 . 10^{-6}$	$2{,}126 . 10^{-5}$	$7{,}75 . 10^{-6}$	$1{,}22 . 10^{-5}$
0,0003	$3{,}31 . 10^{-5}$	$3{,}15 . 10^{-6}$	$3{,}0 . 10^{-5}$	$2{,}09 . 10^{-5}$	$7{,}8 . 10^{-6}$
0,0005	$4{,}61 . 10^{-5}$	$4{,}97 . 10^{-6}$	$4{,}11 . 10^{-5}$	$2{,}47 . 10^{-5}$	$1{,}84 . 10^{-5}$
0,001	$8{,}368 . 10^{-5}$	$9{,}4 . 10^{-6}$	$7{,}404 . 10^{-5}$	$2{,}81 . 10^{-5}$	$4{,}46 . 10^{-5}$
0,003	$2{,}64 . 10^{-4}$	$3{,}75 . 10^{-5}$	$2{,}765 . 10^{-4}$	$8{,}75 . 10^{-5}$	$1{,}38 . 10^{-4}$
0,005	$4{,}437 . 10^{-4}$	$7{,}69 . 10^{-5}$	$3{,}667 . 10^{-4}$	$2{,}46 . 10^{-4}$	$1{,}19 . 10^{-4}$
0,01	$1{,}03 . 10^{-3}$	$3{,}0 . 10^{-4}$	$7{,}2 . 10^{-4}$	$5{,}464 . 10^{-4}$	$1{,}73 . 10^{-4}$

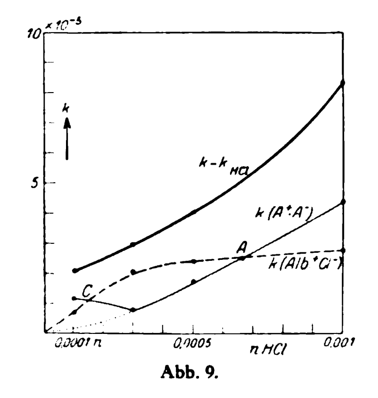


Abb. 9.

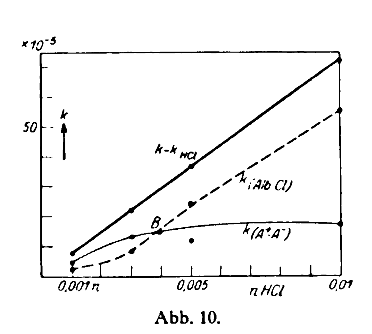


Abb. 10.

Hier entfällt auf $K_{A^+A^-}$ ein beträchtlicher Teil der Gesamtleitfähigkeit. Sehr übersichtlich werden die Verhältnisse in den Abb. 9 und 10.

Es wurde schon hervorgehoben, daß die Leitfähigkeit unserer hochgereinigten Proteine sich aus zwei Summanden zusammensetzt, der K des $Alb.^-/H^+$, aus der Ionisation als Säure, und aus $K_{a^+a^-}$, welche aus der Reaktion je eines Zwitterions mit H^+ und HCO_3^- hervorgeht. Der Punkt M auf der Ordinate (Abb. 9) würde dem Werte von $K_{a^+a^-}$ im reinen Seralbumin entsprechen. Wir wissen nun vom Glutin

(Abb. 4), daß hier die anfänglich noch vorhandene $K_{a^+a^-}$ durch die Aufhebung der Kohlensäureeiweißverbindung mit steigendem HCl-Zusatz rasch auf Null sinkt. Beim Seralbumin kommt aber offenbar eine bimolekulare Ionisation $[A^+.A^-]$ durch die Salzsäure zustande, die diesem Absinken von $K_{a^+a^-}$ entgegenwirkt und schließlich zu einem Ansteigen von $K_{A^+A^-}$ führt. Der Anfangsteil der Kurve $K_{A^+A^-}$ ist also das Ergebnis der zwei entgegengesetzt verlaufenden Vorgänge, bis zum Ersatz der bimolekularen Ionisation aus der Verbindung mit H^+ und HCO_3^-, durch die Reaktion mit H^+ und Cl^-, was zu dem eigentümlichen und charakteristischen Verlauf von $K_{A^+A^-}$ führt. Die Strichelung von $K_{A^+A^-}$ zum Anfangspunkt deutet das Verhalten bei Ausschluß von H_2CO_3 an.

Aus dem Vergleich der Chloridkurve $K_{Alb.Cl}$ mit $K_{A^+A^-}$ geht ferner (wenn man von der CO_2-Wirkung absieht) hervor, daß anfangs das Albuminchlorid den größeren Teil der Leitfähigkeit trägt. $K_{Alb.Cl}$ liegt über $K_{A^+A^-}$. Allein dann überkreuzen sich die Kurven in A, so daß $K_{A^+A^-}$ überwiegt. Eine folgende neuerliche Durchschneidung in B (Abb. 10) führt schließlich zu einem steilen Aufstieg von $K_{Alb.Cl}$. Eine allererste Durchkreuzung in C, Abb. 9, ergibt sich als sekundäres Resultat der ursprünglichen Kohlensäurereaktion des Albumins. Sie liegt bei $1{,}6 . 10^{-4}$ n HCl. Die eigentlichen Schnittpunkte A und B liegen bei $6{,}4 . 10^{-4}$ und $3{,}6 . 10^{-3}$ n HCl für unser 1proz. Seralbumin.

Die Leitfähigkeiten geben jedoch nur ein indirektes, durch den folgenden Umstand stark verzerrtes Bild der elektrochemischen Konstitution unserer Säureproteinlösung. In die Leitfähigkeitswerte des Albuminchlorids geht das Eiweiß nur mit einem Äquivalent ein, ferner nimmt es daran im Verhältnis 50:125, nämlich von $u:(u+v)$ teil. Dagegen wirkt es bei der Leitfähigkeit $K_{A^+A^-}$ mit zwei Äquivalenten je von der Beweglichkeit 50 r. O. Um ein richtiges Bild der Eiweißionenverteilung zu erhalten, muß man an Stelle der K-Werte die daraus leicht berechenbaren ionischen Eiweißäquivalente setzen. Das ist in der Tabelle XIII (Abb. 11) geschehen.

Tabelle XIII. (Abb. 11.)

1 proz. Seralbumin.

Endkonzentriertes n HCl	Ionische Eiweißäquivalente in		n Eiweißionen	
	Alb.⁺. Cl⁻	A⁺. A⁻	negative	positive
0,0001	6,2 . 10−5	2,44 . 10−4	1,253 . 10−4	1,84 . 10−4
0,0003	1,67 . 10−4	1,56 . 10−4	8,13 . 10−5	2,45 . 10−4
0,0005	1,97 . 10−4	3,68 . 10−4	1,873 . 10−4	3,81 . 10−4
0,001	2,24 . 10−4	8,92 . 10−4	4,493 . 10−4	6,70 . 10−4
0,003	7,0 . 10−4	2,76 . 10−3	1,38 . 10−3	2,08 . 10−3
0,005	1,96 . 10−3	2,38 . 10−3	1,19 . 10−3	3,15 . 10−3
0,01	4,37 . 10−3	3,46 . 10−3	1,73 . 10−3	6,10 . 10−3

Aus dieser Darstellungsweise (Abb. 11) geht nun hervor, daß anfangs bei Säurezusatz der weitaus größere Teil der ionischen Äquivalente des Seralbumins in Form der bimolekular ionisierten A^+ und A^-, und zum kleineren Teile als Albuminchlorid vorliegt. Erst bei einem Säurezusatz von 8.10^{-3} n HCl zu unserem 1 proz. Seralbumin findet sich der einzige Schnittpunkt der Kurven (*A*, Abb. 11), welcher anzeigt, daß die bei Bildung von $Alb.^+/Cl^-$ und $(A^+.A^-)$ entstandenen Eiweißäquivalente einander gleich geworden sind.

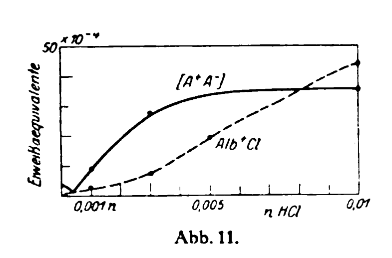


Abb. 11.

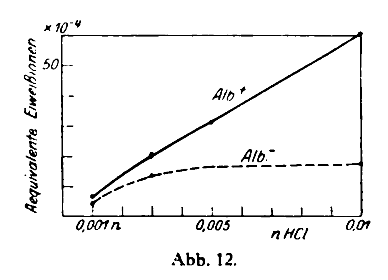


Abb. 12.

Man kann es schließlich auf Grund der vorliegenden Daten unternehmen, die gebildeten Äquivalente positiver und negativer Eiweißionen einander gegenüberzustellen, indem man sämtliche ionisierenden Formen berücksichtigt. Infolge der sehr geringen Konzentration der Form $Alb.^-/H^+$ überwiegt schon bei sehr niedrigen[1]) Säurezugaben die Bildung positiver Ionenäquivalente, wie aus den letzten Kolonnen der Tabelle XIII hervorgeht, welche die betreffenden Daten enthält (vgl. Abb. 12).

Die angeführten Ergebnisse scheinen uns überzeugend dafür zu sprechen, daß das Seralbumin ähnlich wie mit H_2CO_3 auch mit HCl unter Erzeugung von positiven und negativen Ionen reagiert, und wir werden diesen Vorgang vorläufig, wenigstens in seiner primären Phase, durch das Schema

$$2\,(^+NH_3.R.COO^-) + HCl \rightarrow NH_3Cl.R.COO^- + COOH.R.NH_3^+$$

uns veranschaulichen dürfen, durchaus analog auch den für die Reaktion mit Neutralsalz ($ZnCl_2$) entwickelten Vorstellungen (*Pauli* und *M. Schön*, l. c.).

Die Quelle für die so entstandenen negativen Eiweißionen kann dabei nur der Eintritt von Cl in das Protein sein, sie muß also in dem

[1]) Für eine direkte Ermittlung der Lage des isoelektrischen Punktes (J) reicht in diesen Konzentrationen die Genauigkeit der Bestimmung und der Korrektur von C_{Cl} nicht aus. Mit der ***Pauli***schen Alkoholfällungsmethode fand sich (J) des reinsten Seralbumins sehr niedrig, bei **6,22 – 7,43 . 10^{-6} [H^+]**, ganz entsprechend dem kleinen C_H desselben (s. unten).

gebundenen Cl (Tabelle XI) enthalten sein. Man kann sich nun die Frage vorlegen, ob in diesem Falle das ganze gebundene Cl bei der bimolekularen Eiweißionisation aufgebraucht oder ein Teil auch auf andere Weise — also ohne zum Aufbau irgendwelcher Proteinionen zu dienen — inaktiviert wird. Das letztere ist nämlich, wie unsere Versuche zeigten, praktisch zur Gänze beim Glutin der Fall, wo im untersuchten Konzentrationsbereich keine merkliche Bildung von (A^+A^-) durch HCl-Zusatz zu beobachten ist. In der Tabelle XIV sind die Normalitäten der gebildeten Eiweißionen A^-, welche durch Cl-Aufnahme entstanden sind, und das gebundene Cl einander gegenübergestellt. In der letzten Reihe ist dann der eigentliche inaktive, zu keinerlei neuer Ionenbildung verwendete Cl-Anteil angegeben. Die ersten zwei HCl-Konzentrationen sind wegen des Hereinspielens der H_2CO_3 fortgelassen.

Tabelle XIV.

1 proz. Seralbumin.

n HCl	$5 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$3 \cdot 10^{-3}$	$5 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-2}$
Cl gebunden . .	$3{,}17 \cdot 10^{-4}$	$7{,}53 \cdot 10^{-4}$	$2{,}21 \cdot 10^{-3}$	$2{,}85 \cdot 10^{-3}$	$4{,}92 \cdot 10^{-3}$
Cl in A^-	$1{,}84 \cdot 10^{-4}$	$4{,}46 \cdot 10^{-4}$	$1{,}38 \cdot 10^{-3}$	$1{,}19 \cdot 10^{-3}$	$1{,}73 \cdot 10^{-3}$
Inaktiver Cl-Rest	$1{,}33 \cdot 10^{-4}$	$3{,}07 \cdot 10^{-4}$	$0{,}83 \cdot 10^{-3}$	$1{,}66 \cdot 10^{-3}$	$3{,}19 \cdot 10^{-3}$

Diese Zusammenstellung zeigt, daß stets nur ein Teil des im Seralbumin gebundenen Cl zur bimolekularen Eiweißionisation dient, ein anderer, anfangs kleinerer, von $5 \cdot 10^{-3}$ n HCl an jedoch der überwiegende, ohne Ionenbildung inaktiviert wird. Dieser nähert sich schließlich der doppelten der zur Erzeugung von negativen Eiweißionen verbrauchten Menge.

Während somit das gebundene Cl beim Glutin anscheinend in einer einheitlichen Form mit dem Eiweiß reagiert, lassen sich beim Seralbumin nach den bisherigen Versuchen zwei Arten der Cl-Bindung feststellen, eine solche unter Bildung negativer Proteinionen (A^-) und eine unter Inaktivierung ohne Vermehrung der vorhandenen Ionen. Will man also beim Seralbumin die Berechnung eines scheinbaren Dissoziationsgrades a vornehmen, so darf hier nicht, wie beim Glutin, das gesamte gebundene Cl, sondern dieses nur nach Abzug des zur Bildung von (A^-) verbrauchten Cl herangezogen werden. Das ist in der Tabelle XV geschehen, welche zum Vergleich die unkorrigierten, in der gleichen Weise wie beim Glutin berechneten a'-Werte aus der Formel $\frac{C'_H - C'_{Cl}}{C'_H}$ enthält. Der scheinbare Dissoziationsgrad ist $a = \frac{C_{Cl} - C_H}{Cl_{Rest} + (C_{Cl} - C_H)}$ entnommen. Der Zähler ist hier die Differenz des aktiven Cl und jenes Anteils, den man als HCl rechnen kann, also

die Cl-Aktivität des Albuminchlorids, der Nenner die Summe des inaktiven Cl (Cl-Rest, Tabelle XV) und des zugehörigen aktiven Cl.

Tabelle XV.

1 proz. Seralbumin, *a*.

n HCl	5.10^{-4}	1.10^{-3}	3.10^{-3}	5.10^{-3}	1.10^{-2}
α' Proz.	36,4	23,0	24,1	40,8	67,02
α Proz.	60,1	42,2	45,7	54,2	57,8

Es läßt sich aus Tabelle XV ersehen, daß der scheinbare Dissoziationsgrad α durch ein deutliches Minimum bei 1.10^{-3} hindurchgeht, um dann stetig anzusteigen.

Die Beobachtungen am Seralbumin in dem untersuchten Konzentrationsbereich lassen sich dahin zusammenfassen, daß bis zu einem Säurezusatz von fast 8.10^{-3} n HCl zum 1 proz. Eiweiß, dessen überwiegender Anteil unter bimolekularer Ionisation und Bildung der gleichen Anzahl positiver und negativer Proteinionen, ähnlich wie mit H_2CO_3, reagiert. Daneben entstehen, rasch ansteigend, positive Proteinionen eines Glutinchlorids, welches von 8.10^{-3} n HCl-Zugabe an die Mehrzahl der erzeugten ionischen Eiweißäquivalente beistellt.

Die gegebenen Daten sind alle unter der Annahme einer Äquivalentbeweglichkeit der Eiweißionen von 50 r. O. (25° C) abgeleitet. Diese Beweglichkeit ist am Institut bei Globulinionen direkt von *M. Adolf*[1]) gemessen worden, und sie liegt sehr nahe der mittleren Beweglichkeit von Kolloidionen aller Art, die in jüngster Zeit sehr sorgfältig bestimmt werden konnte (*Pauli* mit *E. Fried*, *N. Kühnl*, *L. Fuchs*). Eine Überschreitung des hier angenommenen Wertes 50 darf bei unseren Eiweißkörpern als sehr unwahrscheinlich angesehen werden, dagegen wäre auch ein etwas kleinerer Wert wohl möglich. So würde sich die auf das Albuminchlorid entfallende Leitfähigkeit für $u = 40$ um 8 Proz. vermindern und die auf $(A^+.A^-)$ entfallende entsprechend erhöhen. Dieser erhöhte Wert von $K_{A^+A^-}$ würde aber jetzt um 20 Proz. mehr ionischen Eiweißäquivalenten entsprechen als bei $u = 50$. Das Ergebnis wäre demnach nur noch eine Steigerung des Wertes für $(A^+.A^-)$, also für die durch bimolekulare Dissoziation unter Aufnahme von H^+ und Cl^- bewirkte Proteinionenbildung. Das Bestehen dieses Vorgangs bei der Reaktion von Seralbumin mit HCl darf somit als vollständig gesichert und die dafür gegebenen Daten müssen wohl als Minimalwerte desselben angesehen werden.

IV. Ovalbumin.

Das Ovalbumin bietet in den niedrigsten Säurekonzentrationen gewisse, beim Glutin und Seralbumin stark zurücktretende Schwierig-

[1]) Kolloidchem. Beihefte **19**, 363, 1924.

keiten, die von seiner viel ausgiebigeren Reaktion mit Hg_2Cl_2 herrühren und die Verwertung der Resultate der Cl-Aktivitätsmessung in diesem Säuregehalt erschweren. Das reine Ovalbumin (1,57 proz.) gab ein $C_H = 1{,}67 . 10^{-5}$ und ein $C_{Cl} = 3{,}17 . 10^{-4}$. Es zeigte sich zunächst, daß diese Cl-Aktivität durch mäßigen Säureansatz nicht reversibel ist, also nicht wie beim Glutin oder Seralbumin nahe an die des Hg_2Cl_2 im Wasser herabgedrückt werden kann. Hier ist der größte Teil der aufgenommenen Mercuroionen schwer durch H-Ionen verdrängbar.

Tabelle XVI.
1,57 proz. Ovalbumin + H_2SO_4, C_{Cl}.

n H_2SO_4	Millivolt	p_{Cl}	C_{Cl}
0,0000	486,8	3,4992	3,17 . 10−4
0,0001	—	—	—
0,0003	482,3	3,4217	3,79 . 10−4
0,0005	487,3	3,5077	3,11 . 10−4
0,001	491,3	3,5766	2,65 . 10−4
0,005	491,8	3,5852	2,60 . 10−4
0,01	491,8	3,5852	2,60 . 10−4

Diesem Versuch entspricht es auch, daß die Leitfähigkeitsdifferenz von mit Kalomel bedandeltem und nicht behandeltem HCl-Ovalbumin ΔK nicht mit steigendem Säurezusatz abnimmt (vgl. Tab. II und VIII) sondern recht konstant bleibt (Tabelle XVII).

Tabelle XVII.
1,57 proz. Ovalbumin + HCl (+ Hg_2Cl_2), K.

n HCl	K_1	K_2, (L + Hg_2Cl_2)	$K_2 - K_1 = \Delta K$
0,0000	2,62 . 10−5	7,87 . 10−5	5,25 . 10−5
0,0001	3,68 . 10−5	8,66 . 10−4	4,98 . 10−5
0,0003	5,34 . 10−5	—	—
0,0005	7,29 . 10−5	1,255 . 10−4	5,25 . 10−5
0,001	1,098 . 10−4	1,65 . 10−4	5,52 . 10−5

Unter solchen Umständen müssen wir hier damit rechnen, daß (bei der Cl-Ionenmessung) das Hg am Albumin nicht nur nicht vom H der zugesetzten Säure hinausgedrängt wird, sondern daß es vielmehr das H derselben am Eintreten in das Eiweißmolekül hindert. Sichere Aussagen über die Cl-Aktivität werden somit erst in einem Konzentrationsbereich der Säure möglich sein, in welchem die Kalomelkorrektur praktisch wenig ausgibt. Immerhin zeigt schon die von diesen Verhältnissen nicht berührte H-Ionenmessung (Tabelle XVIII) gewisse Unterschiede gegen das Seralbumin und Glutin, indem hier auch nach Abzug der vom Ovalbumin (als Säure) dissoziierten H-Ionen, z. B. in n/100 HCl mehr als doppelt so viel aktives H verbleibt als beim Seralbumin und dies trotz der um 57 Proz. höheren Konzentration des

Ovalbumins. Der an dem höheren C_H des reinen Ovalbumins erkennbaren stärkeren Dissoziation der Carboxylgruppe würde also auch eine stärkere Hydrolyse der Ammoniumgruppe entsprechen, durch welche mehr HCl aktiviert wird (vgl. Tabelle XVIII mit Tabelle IV und X, auch Abb. 13).

Tabelle XVIII.

1,57 proz. Ovalbumin + HCl, p_H.

HCl	Millivolt	p_H	C_H	H gebunden
0,0000	561,0	4,7762	$1{,}67 \cdot 10^{-5}$	—
0,0001	560,0	4,7590	$1{,}74 \cdot 10^{-5}$	$9{,}93 \cdot 10^{-5}$
0,0003	554,0	4,6557	$2{,}21 \cdot 10^{-5}$	$2{,}946 \cdot 10^{-4}$
0,0005	550,0	4,5669	$2{,}59 \cdot 10^{-5}$	$4{,}91 \cdot 10^{-4}$
0,0008	543,0	4,4664	$3{,}42 \cdot 10^{-5}$	$7{,}825 \cdot 10^{-4}$
0,001	540,0	4,4148	$3{,}85 \cdot 10^{-5}$	$9{,}78 \cdot 10^{-4}$
0,003	509,0	3,8813	$1{,}31 \cdot 10^{-4}$	$2{,}885 \cdot 10^{-3}$
0,005	486,0	3,4854	$3{,}27 \cdot 10^{-4}$	$4{,}69 \cdot 10^{-3}$
0,008	461,0	3,0551	$8{,}81 \cdot 10^{-4}$	$7{,}12 \cdot 10^{-3}$
0,01	446,5	2,8055	$2{,}56 \cdot 10^{-3}$	$8{,}44 \cdot 10^{-3}$

In der beigegebenen Abb. 13 sind die freien H-Ionen von 1 proz. Seralbumin 1,2 proz. Glutin und 1,57 proz. Ovalbumin bei HCl $1 \cdot 10^{-3}$ bis $1 \cdot 10^{-2}$ n eingetragen. In den Konzentrationen bis $5 \cdot 10^{-3}$ n macht sich ein etwaiger Unterschied in der H-Bindung gegen Glutin und Seralbumin nicht bemerkbar.

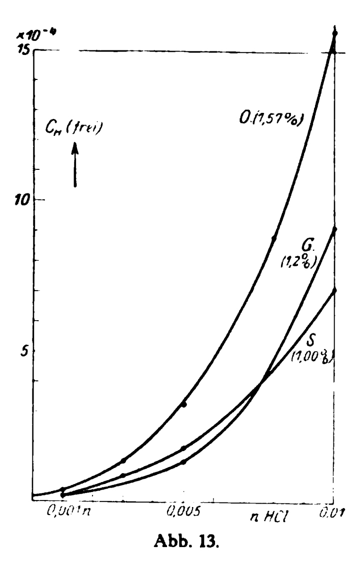


Abb. 13.

Betrachten wir nun die Chloraktivitäten, so zeigt sich, daß die Korrektur infolge der Kalomelwirkung bei $5 \cdot 10^{-3}$ n nur mehr 7 Proz. beträgt, um bei $1 \cdot 10^{-2}$ auf 4 Proz. zu sinken. In diesem Konzentrationsbereich treten also die Beziehungen von Protein zu Säure, soweit sie sich in der Cl-Messung spiegeln, schon genügend stark hervor. Dagegen muß die Abschirmung der HCl von Eiweiß durch das aufgenommene Hg_2Cl_2 so wirken, daß neben den von der HgCl-Reaktion stammenden aktiven Cl-Ionen solche von der frei gebliebenen HCl in verstärktem Maße auftreten. Es wird auf diese Weise anfangs so gut wie keines, dann relativ zu wenig Cl als gebunden berechenbar sein. Das ist auch wirklich der Fall, wie die Tabelle XIX lehrt. Diese geringe Cl-Bindung in niederen Säurekonzentrationen kann also nicht als Ergebnis einer Albumin-

chloridionisation, sondern muß in erster Reihe als Resultat der durch Hg_2Cl_2 verhinderten Verbindung des Proteins mit der Säure gewertet werden. Die betreffenden Zahlen der Tabelle XIX sind deshalb durch ein Sternchen gekennzeichnet worden.

Tabelle XIX.

1,57 proz. Ovalbumin + HCl, p_{Cl}.

n HCl	Millivolt	p_{Cl}	C_{Cl}	C_{Cl} (korrig.)	C'_{Cl} gebunden
0,0000	486,8	3,4992	3,17 . 10−4	—	—
0,0001	480,8	3,3959	4,02 . 10−4	9,1 . 10−5	9,0 . 10−6*
0,0003	471,8	3,2410	5,74 . 10−4	2,63 . 10−4	3,7 . 10−5*
0,0005	464,8	3,1205	7,58 . 10−4	4,47 . 10−4	5,3 . 10−5*
0,0008	458,8	3,0172	9,61 . 10−4	6,50 . 10−4	1,5 . 10−4*
0,001	456,8	2,9828	1,04 . 10−3	7,80 . 10−4	2,2 . 10−4*
0,003	439,3	2,6816	2,08 . 10−3	1,80 . 10−3	1,2 . 10−3*
0,005	426,3	2,4579	3,48 . 10−3	3,20 . 10−3	1,8 . 10−3
0,008	415,8	2,2771	5,28 . 10−3	5,02 . 10−3	2,98 . 10−3
0,01	408,8	2,1566	6,97 . 10−3	6,71 . 10−3	3,30 . 10−3

Die für die Beurteilung der gemessenen Cl-Aktivität maßgebenden Gesichtspunkte müssen auch für die daraus abgeleiteten Leitfähigkeitsanteile der verschiedenen Proteinionen Geltung haben. Das Ergebnis der Freisetzung von Cl durch Abhalten der HCl vom Protein infolge Kalomelanwesenheit muß in den Leitfähigkeitsanteilen als ein scheinbares Überwiegen des Wertes für [Alb.$^+$/Cl$^-$] auf Kosten von [A$^+$, A$^-$] zutage treten, wie dies auch in der letzten Kolonne der Tabelle XX zu bemerken ist. Das scheinbar verschwundene [A$^+$.A$^-$] wird jedoch merklich, sobald die Kalomelreaktion und die Kalomelkorrektur bei höherem Säurezusatz stark zurücktritt. Aber auch unter Berücksichtigung dieser Verhältnisse erscheint $K_{A^+.A^-}$ beim Ovalbumin an sich sehr klein, nur weniger als halb so groß wie beim Seralbumin (bei n/100 HCl). Da es zugleich nach den H-Aktivitäten sicher ist, daß die Gesamtbindung von HCl beim Ovalbumin stark hinter der an Seralbumin zurückbleibt und die ionische Form [A$^+$.A$^-$] nur aus der gleichzeitigen und getrennten Reaktion vom Albumin mit H$^+$ und Cl$^-$ resultiert, so kann auch daraus entnommen werden, daß Ovalbumin in der Bildung der Proteinionen [A$^+$.A$^-$] dem Seralbumin in dem hier untersuchten Konzentrationsbereich weit nachsteht. Diese Betrachtungen erhalten a fortiori eine Beweiskraft, da hierbei 1,57 proz. Ovalbumin mit 1 proz. Seralbumin verglichen wurde. Daß auch hier am Anfang noch die Verbindung mit H_2CO_3 hereinspielt, zeigen die ersten zwei Werte für $K_{a^+a^-}$ sehr deutlich an.

Tabelle XX.

1,57 proz. Ovalbumin + HCl, K-Fraktionen.

n HCl	K	K_{HCl}	$K - K_{HCl}$	$K_{HCl.Cl}$	$K_{A^+.A^-}$
0,0000	$1,77 . 10^{-5}$	—	—	—	—
0,0001	$2,93 . 10^{-5}$	$2,97 . 10^{-7}$	$2,90 . 10^{-5}$	$1,12 . 10^{-5}$	$1,11 . 10^{-5}$
0,0003	$4,17 . 10^{-5}$	$2,29 . 10^{-6}$	$3,94 . 10^{-5}$	$3,22 . 10^{-5}$	$6,0 . 10^{-7}$
0,0005	$5,83 . 10^{-5}$	$3,91 . 10^{-6}$	$5,44 . 10^{-5}$	$5,26 . 10^{-5}$	—
0,0008	$8,34 . 10^{-5}$	$7,43 . 10^{-6}$	$7,60 . 10^{-5}$	$7,6 . 10^{-5}$	—
0,001	$1,015 . 10^{-4}$	$9,26 . 10^{-6}$	$9,25 . 10^{-5}$	$9,25 . 10^{-5}$	—
0,003	$2,855 . 10^{-4}$	$4,8 . 10^{-5}$	$2,40 . 10^{-4}$	$2,08 . 10^{-4}$	$2,54 . 10^{-5}$
0,005	$5,197 . 10^{-4}$	$1,49 . 10^{-4}$	$3,707 . 10^{-4}$	$3,58 . 10^{-4}$	$6,1 . 10^{-6}$
0,008	$9,68 . 10^{-4}$	$3,94 . 10^{-4}$	$5,89 . 10^{-4}$	$5,16 . 10^{-4}$	$6,64 . 10^{-5}$
0,01	$1,37 . 10^{-3}$	$6,63 . 10^{-4}$	$6,93 . 10^{-4}$	$6,43 . 10^{-4}$	$8,00 . 10^{-5}$

Man kann ferner in ähnlicher Weise die vom Eiweiß beigestellten verschiedenen Ionenäquivalente der Formel ($Alb.^+/Cl^-$) (I) und ($A^+.A^-$) (II), in der Art wie beim Seralbumin, aus den Leitfähigkeiten errechnen, wodurch eine starke Annäherung der entsprechenden Kurven erfolgt. Doch überwiegt beim Ovalbumin schon in den untersuchten Konzentrationen die für I aufgewendete Proteinionenbildung über die als II vorliegenden beträchtlich. Ferner zeigt eine der am Seralbumin analoge Berechnungsweise, daß ein großer Teil des HCl ohne zur Ionenbildung Verwendung zu finden, mit vollständiger Inaktivierung vom Ovalbumin aufgenommen wird.

V. Schlußbemerkungen.

Die hier ausgeführten Versuche über das Verhalten reinster wasserlöslicher Proteine haben zu in verschiedener Richtung bemerkenswerten Ergebnissen geführt. Zunächst können wir beim Vergleich der nunmehr großen Zahl von auf dieselbe Weise am Institut von verschiedenen Untersuchern hergestellten, reinsten Proteinen feststellen, daß dieselben tatsächlich eine gute reproduzierbare eigene H-Konzentration und Cl-Aktivität (mit Hg_2Cl_2) aufweisen. Wir müssen also diese Werte als durchaus charakteristisch ansehen. Sie sind für jeden der Eiweißkörper recht verschieden und werden auch in den folgenden Untersuchungen regelmäßig wiederkehren. Bei den hier verwendeten Konzentrationen fand sich:

Tabelle XXI.

	Seralbumin (S)	Glutin (G)	Ovalbumin (O)
Konzentration . . .	1,00 proz.	1,2 proz.	1,57 proz.
C_H	$3,3 . 10^{-6}$	$7,88 . 10^{-6}$	$1,67 . 10^{-5}$
C_{Cl}	$1,82 . 10^{-4}$	$1,27 . 10^{-4}$	$3,17 . 10^{-4}$

Die Acidität wächst also hier in der Reihe S < G < O. Die Aufnahme von Hg in der Reihe G < S < O. Das letztere muß sich nach den hier gegebenen Cl-Werten auch in der Überführung insofern äußern, als dem C_{Cl} eine entsprechende Menge von positiven Eiweißionen zugeordnet werden muß. In der Tat zeigte Ovalbumin (1,57 proz.), das mit Hg_2Cl_2 geschüttelt worden war, *im Landsteiner-Pauli*schen Überführungsapparat nach 20 Minuten stark kathodische Wanderung, die bei ebenso behandelten Seralbumin nach 5stündiger Durchströmung gleichfalls nachgewiesen werden konnte, während keine anodische Wanderung zu konstatieren war. Ferner erwies sich die Alkoholfällbarkeit des mit Hg_2Cl_2 behandelten Ovalbumins stark gehemmt.

Es wurden weiter einige vorläufige Bestimmungen des isoelektrischen Punktes[1]) mit Hilfe der elektrischen Überführung und der Alkoholfällungsmethode von *Pauli* ausgeführt. Alle Reihen sind gut reproduzierbar.

Es fand sich ein Optimum der Alkoholfällbarkeit mit Essigsäureacetatpuffer für *Seralbumin* zwischen $8 \cdot 10^{-6}$ und $1{,}01 \cdot 10^{-5}$ n [H⁻]. Die H-Werte stets potentiometrisch bestimmt, überall n/100 Acetat, das Eiweiß 0,666proz. Dasselbe Seralbumin (1proz.) gab mit HCl-Zusatz ein scharfes Fällungsoptimum bei $C_H = 6{,}22 - 7{,}43 \cdot 10^{-6}$.

Mit *Ovalbumin* gaben Versuche mit HCl-Zusatz ein Optimum der Alkoholfällung bei $C_H = 1{,}74 \cdot 10^{-5}$ n, während die elektrische Überführung unter den gleichen Verhältnissen bei $C_H = 1{,}74 \cdot 10^{-5}$ n stets überwiegend kathodische, bei $1{,}7 \cdot 10^{-5}$ doppelsinnige Wanderung anzeigte. Das Fällungsoptimum verschob sich nicht erkennbar bei Abnahme des Ovalbumingehalts auf 1,57 Proz.

Glutin (1,2 proz.) gab bei Essigsäureacetatpuffer ein Fällungsoptimum mit Alkohol etwas unscharf bei $1 \cdot 10^{-5}$, bei HCl-Zusatz scharf zwischen 1,06 bis $1{,}34 \cdot 10^{-5}$.

Wir dürfen einstweilen folgendes aussagen: Sämtliche untersuchten Eiweißkörper zeigen mit Änderung des p_H ein Fällungsoptimum, das bei Ovalbumin wenig, bei Seralbumin und Glutin sehr merklich oberhalb der eigenen C_H der reinen Proteinlösungen liegt. Beim reinsten Glutin und Seralbumin liegen diese Werte tief unter den an den entsprechenden, weniger reinen Körpern bisher gefundenen. Bei unserem (reinstem) Ovalbumin liegt sowohl das C_H der reinen Lösung, als auch das Fällungsoptimum mit HCl-Zusatz höher als der sorgfältigst gemessene Wert am kristallisierten Eialbumin $1{,}574 \cdot 10^{-5}$ von *S. P. L. Sörensen*. Die Abweichung ist nicht groß, aber sie ist ganz unverkennbar, besonders wenn wir daneben halten, daß ein außerordentlich reines 4proz. Ovalbumin ein $C_H = 1{,}75 \cdot 10^{-5}$ aufwies und die Werte über 1,65 bei etwas niedrigeren Konzentrationen typisch reproduzierbar sind. Wir glauben schon jetzt Anhaltspunkte dafür zu haben, daß das kristallisierte Eialbumin möglicherweise gar nicht in unserem Sinne

[1]) Bezüglich eingehenderer Untersuchungen dieser Frage muß auf eine folgende Arbeit aus dem Institut verwiesen werden.

als reines Ovalbumin angesehen werden kann. Hier muß auf die weiteren Untersuchungen verwiesen werden.

Als das hervorstechendste Ergebnis dieser Versuche möchten wir jedoch betrachten, daß es *nicht nur eine Verbindung mit starken Säuren nach dem Typus eines Chlorids, sondern auch nach der schon früher charakterisierten Form* $[A^+A^-]$, *als Ausdruck einer bimolekularen Ionisation* gibt, die bisher nicht bekannt[1]) war. Sie wird an leichtesten verständlich als eine Reaktion mit der Zwitterionenform *Bjerrums* ($^+NH_3R.COO^-$). Das Ausmaß dieser Reaktion ist bei den verschiedenen Eiweißkörpern verschieden und wahrscheinlich für dieselben gleichfalls recht charakteristisch. Sie ist in den untersuchten Konzentrationen sehr stark ausgeprägt beim Seralbumin, weniger beim Ovalbumin, nicht erkennbar beim Glutin, trotzdem bei diesem die analoge Reaktion mit H_2CO_3 sehr deutlich ausgeprägt ist. Ihre Verwandtschaft zur Reaktion der Eiweißkörper mit Neutralsalz wurde schon an anderer Stelle (*Pauli* und *M. Schön*, l. c.) hervorgehoben.

Zwei Gebiete in der physikalischen Chemie der Eiweißkörper erfahren durch die neuen Beobachtungen eine andere Beleuchtung. Es sind dies die Theorie der isoelektrischen Reaktion und die Ionengleichgewichte in Proteinlösungen mit höheren Säurekonzentrationen. Diese Verhältnisse sollen hier nun kurz gestreift werden, da die im Gange befindlichen weiteren Untersuchungen eine ausführliche Behandlung dieser Fragen mit sich bringen werden.

Die von *L. Michaelis* aufgestellte Theorie der isoelektrischen Reaktion, die so außerordentlich anregend gewirkt hat, besagt, daß im isoelektrischen Punkte

$$[H^\cdot] = \sqrt{\frac{K_a}{K_b} \cdot K_W},$$

wobei wir unter K_a und K_b die wahren Säure- und Basendissoziationskonstanten des Ampholyten verstehen wollen, K_W die Wasserkonstante vorstellt. Diese Ableitung sieht je eine Art von positivem und negativem Proteinion $A^\cdot$ und A' voraus, die zum undissoziierten Eiweißanteil N im Verhältnis $A'.[H^\cdot] = K_a N$ und $A^\cdot [OH'] = K_b N$ stehen. Im isoelektrischen Punkte $[J]$ wird nun $[A^\cdot] = [A']$. Folgerichtig ergibt sich aus dieser Auffassung, daß in einer $[H^\cdot]$, die kleiner als $[J]$ ist, keine Reaktion mit einer zugesetzten Säure erfolgt. *S. P. L. Sörensen*[2]) hat die einwandfreie formale Ableitung

[1]) Die wiederholt in früheren Arbeiten erörterte Auffassung *T. B. Robertsons* fußt auf einem ionischen Zerfall, einer vielfältigen Aufsplitterung des Proteinmoleküls in der Peptidbindung bei Säure- oder Alkaliwirkung und schließt einfache Salzbildung vollständig aus, sie ist also von der unsrigen wesensverschieden.

[2]) Ergebn. d. Physiol. 12, 503, 1912.

dieses notwendig aus den gemachten Voraussetzungen erfließenden Satzes gegeben und *J. Loeb* hat, allerdings mit einer falschen Methodik (vgl. *Pauli* und *M. Schön*, l. c.), einen experimentellen Beweis dafür angegeben und diesen Satz so formuliert: „Eiweißkörper verbinden sich mit Säuren nur bei einem p_H, das kleiner ist als der isoelektrische Punkt".

Trotz eines sehr eindeutigen Hinweises auf die hier vorliegenden Schwierigkeiten und der Mitteilung dieser Theorie widersprechender experimenteller Befunde[1]) haben diese Bedenken keinen Widerhall gefunden. Eine ohne weitere Literaturangabe von *L. Michaelis*[2]) versuchte Ergänzung der Theorie durch Berücksichtigung der Salzbildung des Ampholyten ist rein spekulativ und geht, wie die ursprüngliche Ableitung, an den tatsächlichen Verhältnissen in dem entscheidenden Punkte vorüber.

Stellt man sich streng auf den Boden der Tatsachen, dann muß unsere erste Frage sein: Auf welchem Wege werden $A^{\cdot}$ und A' gleich? Kommt für die Bildung von $A^{\cdot}$ lediglich die Ionisation von OH' in Betracht, wie dies die bisherige Theorie voraussetzt?

Man braucht sich nur die bekannten Tatsachen im einzelnen gegenwärtig zu machen, um den vorhandenen Widerspruch zu überblicken. Wenn ein Ovalbumin z. B. etwa $1{,}7 . 10^{-5}$ n H (mit den zugehörigen Proteinionen A') dissoziiert, so sind in der reinen Lösung (bei 20^0 C) $5{,}18 . 10^{-10}$ n OH'-Ionen und eine entsprechende Menge der Ionen $A^{\cdot}$ enthalten. Da nicht angenommen wird, daß die ursprüngliche H-Dissoziation des Proteins durch die geringe Steigerung der $[H^{\cdot}]$ bis zu $[J]$ nennenswert zurückgedrängt werden kann, so muß die Angleichung von $A^{\cdot}$ an A' durch Erhöhung von $A^{\cdot}$ um eine Größenordnung von fast fünf Zehnerpotenzen erfolgen. Das ist auf dem Wege einer OH-Dissoziation und bei der gegebenen H-Konzentration gänzlich undenkbar. Wir dürfen also sagen, daß bei sauren Ampholyten der hier betrachteten Art zur Herstellung des $[J]$ die OH-Dissoziation praktisch außer Betracht kommt[3]). Es muß sich vielmehr zur Angleichung von $A^{\cdot}$ an A' um *Neubildung von $A^{\cdot}$-Ionen durch die Reaktion mit der Säure* unter Salzbildung handeln. Die herrschende Anschauung hat eben gar nicht berücksichtigt, daß der nicht leitende und überdies weit größere Anteil des Proteins — in erster Reihe sind das die Zwitterionen —, ganz unbeeinflußt vom p_H, mit der zugesetzten Säure, wie wir jetzt wissen, teils unter Bildung von $Alb.^+$, teils von $[A^+ . A^-]$ reagieren wird. Das ist

---

1) *Pauli*, Kolloidchemie der Eiweißkörper, S. 34ff.

2) Die Wasserstoffionenkonzentration, 2. Aufl., S. 124.

3) Unberührt von diesen Ausführungen bleibt die Berechnung der Wasserstoffionenkonzentrationen in wässerigen Lösungen von Ampholyten, die *Sörensen* (l. c., S. 495) gegeben hat, soweit sie sich auf reine Lösungen, ohne Zusatz von Alkali oder Säure, bezieht.

auch der unzweifelhafte Grund, weshalb wir von starken Säuren das Vielfache dessen zusetzen müssen, was zur Erreichung von [J] nötig wäre, wenn keine Reaktion mit dem Protein erfolgen würde. Mit dieser fundamentalen Tatsache muß eine jede Theorie des isoelektrischen Punktes rechnen. An eine vollständige Theorie kann ohne eine eingehende experimentelle Behandlung des Gebiets im einzelnen nicht gedacht werden. Das große Verdienst der bisherigen ist jedoch unbestreitbar. Es liegt in der durch sie gegebenen ersten Orientierung und in den zahlreichen durch Verwendung von Puffern gefundenen wichtigen Tatsachen.

Die in dieser Mitteilung angegebenen Beobachtungen schließen sich ausgezeichnet an weitere bei höheren Säurekonzentrationen an, wodurch ihr allgemeiner Charakter noch eine Steigerung erfährt. Sie beleuchten in greller Weise mit dem Befunde einer inneren Ionisation den grundsätzlich verkehrten Versuch von *J. Loeb*[1]), den Zustand (Viskosität, Quellung usw.) und das Verhalten des Eiweißes in seiner Lösung aus einem *Donnan*schen Membrangleichgewicht zu erklären. Die gebildeten Verbindungen und der Zustand des Proteins bei Anwesenheit von Säure oder Alkali sind lediglich von seiner Konstitution bestimmt. Dadurch ergeben sich auch die Arten der dabei entstehenden Proteinionen. Sind diese einmal gegeben, dann gilt, wie bei jedem Kolloidion, bei Einbringen in eine Zelle das *Donnan*sche Gleichgewicht, dessen Grenzen von seinem Entdecker von Anfang an vollständig klar angegeben und erkannt worden sind. Die prinzipielle Unrichtigkeit der *J. Loeb*schen Auffassung ist auch in ausgezeichneter Weise von *V. Hill*[2]) ausgeführt worden. Wir müssen uns seinen Darlegungen vollinhaltlich anschließen. Andere grundsätzliche Einwendungen sind von *Wo. Ostwald*[3]) erhoben worden. Es ist charakteristisch, daß die nachweisbare ausgiebige Bildung der Proteinionen [$A^+ . A^-$] in den Berechnungen *J. Loebs* untergeht. Auch in diesem Punkte sei auf die folgenden Mitteilungen verwiesen.

Vorläufig offen bleiben muß unsere Vorstellung von der Art der Bindung des gänzlich inaktiven Säureanteils, für welche verschiedene Möglichkeiten vorhanden sind. Aber sowohl die Aufnahme unter Inaktivierung als auch die unter Bildung der Ionen [$A^+. A^-$] bildet einen Weg, auf welchem auch das Säureanion seinen Einfluß auf die entstandene Proteinverbindung geltend machen kann.

---

[1]) Proteins and the Theory of Kolloidal behaviour. New York 1922.
[2]) Proc. of the Royal soc. A. **102**, 705, 1922.
[3]) Kolloid-Zeitschr. **32**, 220, 1923 und Naturwissensch. **11**, 523, 1923.

Autorenverzeichnis.



